

**STIMULATION UND MODULATION VON
ZELLPROLIFERATION UND IN VITRO
I G E - SEKRETION IN LYMPHOZYTENKULTUREN
VON ATOPIKERN UND NORMALPERSONEN**

PETER THOMAS

1987

Disbui. München

1987





Digitized by the Internet Archive
in 2026

Aus der Dermatologischen Klinik und Poliklinik der
Ludwig-Maximilians-Universität München
(Direktor: Prof. Dr. med. Dr. h.c. O. Braun-Falco)

Stimulation und Modulation von Zellproliferation
und in vitro IgE-Sekretion in Lymphozytenkulturen
von Atopikern und Normalpersonen

Dissertation
zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin
an der Medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Peter Thomas
aus Augsburg

1987

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: 1. Prof. Dr.Dr. J. Ring
2. Prof. Dr. G. Riethmüller

Mitberichterstatter: 1. Prof. Dr.Dr.h.c. O. Braun-Falco
2. Prof. Dr. H. Rabes

Mitbetreuung durch
den promovierten
Mitarbeiter:

Dekan: Prof. Dr. W. Spann

Tag der mündlichen

Prüfung: 23. Juli 1987

Einige der Ergebnisse dieser Arbeit wurden
im Juni 1986 am 16. Jahrestreffen der
European Society For Dermatological Research
(ESDR) in Genf vorgetragen.

Meinen Eltern gewidmet

Inhaltsverzeichnis

	Seite
1. EINLEITUNG	
1.1. Geschichte einiger Fachtermini	7
1.2. Der atopische Symptomenkomplex	10
1.3. Ziel der vorliegenden Arbeit	16
2. MATERIAL UND METHODIK	
2.1. Patienten und Kontrollgruppe	18
2.2. Reagentien	20
2.2.1. Bei der Lymphozytengewinnung	20
2.2.2. Bei der Lymphozytenkultur	23
2.3. Versuchsbeschreibung	27
2.3.1. Überblick	27
2.3.2. Lymphozytentransformationstest (LTT)	28
2.3.2.1. Vorbereitung	28
2.3.2.2. Lymphozytengewinnung	28
2.3.2.3. Lymphozytenkultur	32

	Seite
2.3.3. Isolierung der T-Suppressorzell-subpopulation	33
2.3.3.1. Rosettierungsverfahren	33
2.3.3.2. Reinheitsprüfung mit Immunfluoreszenz	35
2.3.4. Datenregistrierung	36
2.3.4.1. Bestimmung des Gesamt-IgE in vitro	37
2.3.4.2. Zellernte und Messung der Vermehrungsrate	39
2.4. Grundlagen für die statistische Auswertung	40
2.4.1. Begriffe	40
2.4.2. Verwendete Testmethoden	42
3. ERGEBNISSE	
3.1. Eosinophile im Differentialblutbild	43
3.2. Einfluß von Monozyten auf Zellvermehrungsrate und in vitro IgE im LTT	46
3.2.1. Zellvermehrungsrate nach Monozytenabtrennung	46
3.2.2. In vitro IgE nach Monozytenabtrennung	48

	Seite
3.3. Lymphozytentransformationstest bei Atopikern und Kontrollpersonen	50
3.3.1. Zellvermehrungsrate in den PBL-Kulturen von Atopikern und Kontrollpersonen	50
3.3.1.1. Bei Stimulation mit Mitogenen	50
3.3.1.2. Bei Stimulation mit Allergenen	52
3.3.2. Zellvermehrungsrate in den T 8 ⁻ -Kulturen von Atopikern und Kontrollpersonen	54
3.3.2.1. Bei Stimulation mit Mitogenen	54
3.3.2.2. Bei Stimulation mit Allergenen	56
3.3.3. Vergleich der Zellvermehrung in PBL- und T 8 ⁻ -Kulturen	58
3.3.3.1. Zellkulturen von Atopikern	58
3.3.3.2. Zellkulturen von Normalpersonen	59
3.4. In vitro IgE	60
3.4.1. Spontane, maximale und minimale IgE-Werte aus PBL-Kulturen von Atopikern und Normalpersonen	60
3.4.2. Plasma-IgE, spontanes in vitro IgE (PBL-Kultur) und Krankheitsausprägung in der Atopikergruppe	62
3.4.3. Korrelation zwischen Plasma-IgE und spontanem in vitro IgE (PBL-Kultur) bei Atopikern	64
3.4.4. In vitro IgE aus PBL-Kulturen von Atopikern und Normalpersonen	65



	Seite
3.4.4.1. Nach Zusatz von Mitogenen	65
3.4.4.2. Nach Zusatz von Allergenen	68
3.4.4.3. Nach Zusatz von Histamin sowie PWM und Histamin	72
3.4.5. Spontane, maximale und minimale IgE-Werte aus T 8 ⁻ -Kulturen von Atopikern und Normalpersonen	74
3.4.6. In vitro IgE aus T 8 ⁻ -Kulturen von Atopikern und Normalpersonen	76
3.4.6.1. Nach Zusatz von Mitogenen	76
3.4.6.2. Nach Zusatz von Allergenen	79
3.4.6.3. Nach Zusatz von Histamin sowie PWM und Histamin	81
3.4.7. Vergleich zusammengehörender IgE-Werte aus PBL- und T 8 ⁻ -Kulturen	84
3.4.7.1. Zellkulturen von Atopikern	84
3.4.7.2. Zellkulturen von Normalpersonen	87
3.5. Plasma-IgE und in vitro IgE bei Leprapatienten	90

	Seite
4. DISKUSSION	93
4.1. Lymphozytentransformationstest (LTT)	96
4.1.1. Der LTT als Prüfmodell der Immunfunktion	96
4.1.2. Beeinflussung des LTT durch patienten- bedingte Faktoren	96
4.1.3. Einfluß der Kulturbedingungen auf den LTT	100
4.1.4. Einfluß von Monozyten auf die Zellver- mehrungsraten	104
4.1.5. Vergleich der Lymphozytentransformation von Atopikern und Normalpersonen	105
4.1.6. Auswirkungen der Suppressorzellabtren- nung auf die Zellvermehrung	106
4.1.7. Einfluß von Histamin auf die Lymphozyten- transformation	107
4.2. Immunglobulin E (IgE)	109
4.2.1. Eosinophile und IgE	109
4.2.2. Regulation der IgE-Bildung	112
4.2.3. Modelle für in vitro IgE-Sekretion	119
4.2.4. Einfluß von Suppressor-Zellen auf das in vitro IgE aus Kulturen von Atopikern und Normalpersonen	125
4.2.5. Einfluß von Histamin auf die IgE-Sekretion	126
4.2.6. In vitro IgE-Sekretion und Plasma-IgE bei Lepra	128
4.2.7. Ausblick	129

	Seite
5. ZUSAMMENFASSUNG	130
6. LITERATURVERZEICHNIS	132
7. ANHANG	159
7.1. Verwendete Abkürzungen	159
7.2. Zusammensetzung verwendeter Kultur- medien	164
7.3. Datenanhang	168
7.4. Danksagung	170
7.5. Lebenslauf	171

1. Einleitung

"dan kan die rosen iren geschmack geben und uns durch iren geschmack in ein oimacht füren und der corrus der rosen bleibt ongelezt, also wissent auch ein ausgehende kraft von den dingen, so sie in menschen kompt. wiewol das corpus desselbigen gifts nit da ist, so ist doch die bosheit beihendig mit einer solchen schwäch, aber das sie die menschen in eine lange krankheit treiben" (130)

So beschreibt Paracelsus Anfang des 16. Jahrhunderts das geheimnisvolle "Rosenfieber", dessen Entstehung er auf eine indirekte, durch den Rosenduft verursachte Wirkung zurückführt. Etwa zur selben Zeit berichtet der portugiesisch-jüdische Arzt Amatus Lusitanus von einem Mönch, der sich auf Anraten der Ärzte aus Angst vor diesem unangenehmen Rosenduft jeweils zur Zeit der Rosenblüte in seine Zelle einschließen mußte (130).

1.1. Geschichte einiger Fachtermini

Auf der Suche nach historischen Beschreibungen allergischer Phänomene stößt man immer wieder auf den bis in die Antike verfolgbaren Begriff "Idiosynkrasie". Seine Bedeutung entwickelte sich ausgehend von den Lehren der griechischen Naturphilosophen in der Folgezeit unter den Hippokratikern zu einer im Sinne der Humoralpathologie verstandenen Form. In Galens Viersäftelehre, die für die nächsten eineinhalb Jahrtausende Grundlage ätiologischen und pathologischen Denkens in der Medizin werden sollte, liegt auch die Erklärung des Begriffs der "Idiosynkrasie". Dieser liegt zwischen dem harmonischen Zustand der "Eukrasie" als richtiger Säftemischung und dem bereits eindeutig pathologischen Überwiegen des einen über die anderen "humores" bei der

"Dyskrasie". Die "eigentümliche Säftemischung" im Körperinneren läßt dann den betroffenen Menschen überempfindlich auf bestimmte Stoffe reagieren. Viele heute als allergisch erkannte Zustände mögen wohl unter der Bezeichnung Idiosynkrasie erfaßt worden sein.

Im 16. Jahrhundert wuchs das Interesse an äußeren Auslösern der Idiosynkrasie. Schon damals muß es aufgefallen sein, daß bestimmte Personen nach Einverleiben mancher Stoffe rasch dramatische Reaktionen darauf entwickelten. Andreas Libavius sah die Ursache der Idiosynkrasie unter anderem in Erdbeeren, Äpfeln, Rosen, Eiern und Manna (87). Auch wurden bereits Vermutungen auf hereditäre Momente laut, so z. B. von dem französischen Leibarzt Guillaume de Baillou (4). Eine gute Beschreibung einer heute wohl als anaphylaktischer Schock auf ein allergenhaltiges Nahrungsmittel interpretierbaren Idiosynkrasie lieferte 1792 der Arzt Johann Peter Frank. Er beobachtete bei einem seiner Patienten eine plötzliche Anschwellung des Gesichts verbunden mit Übelkeit und Schwindel, gleich nach der Einnahme einer Mahlzeit, der später eine Rötung über viele Teile des Körpers folgte (40). Bemerkenswert sind auch Aufzeichnungen von 1797, denen zufolge im Hôtel de Dieu in Paris zahlreiche Schnitter aufgenommen wurden, die nach dem Dreschvorgang mit Schüttelfrösten, Abgeschlagenheit der Gliedmaßen, Schwindel, Rötung des Körpers, erschwelter Atmung und Petechien erkrankt waren. Diese Erscheinungen sollen sich jedoch schnell und komplikationslos zurückgebildet haben (130). In der Zeit als die ersten Studien über das Heufieber in England erschienen, wurde der Begriff "hypersensitivity" geprägt, dessen allgemeiner Charakter von Coca 1920 auf Überempfindlichkeit als "spezifisch induzierte Reaktionsweise bei Menschen und niederen Tieren" eingeengt wurde (32). Vor etwa 80 Jahren führ-

ten Ch. Richet und P. Portier den Ausdruck "Anaphylaxie" ein zur Beschreibung einer eigenartigen, zu Schocksymptomatik führenden Schutzlosigkeit ihrer Versuchstiere gegenüber Reinjektion von tierischen Toxinen (109). Bald darauf wurden entsprechend dem wachsenden Interesse an derartigen merkwürdigen Reaktionsweisen Begriffe wie Aristophylaxie, Parphyloxie etc. vorgeschlagen (130). Es folgten weitere Beschreibungen von Antikörper-gebundenen Reaktionen: zwischen 1903 und 1906 das Arthus-Phänomen sowie die Definition der Serumkrankheit (111). Als im Juli 1906 der Wiener Kinderarzt Clemens von Pirquet in einem kurzen Aufsatz in der Münchner Medizinischen Wochenschrift den neuen Ausdruck "Allergie" vorschlug als "allgemeinen Begriff der veränderten Reaktionsfähigkeit", war ein Oberbegriff für die verwirrende Vielzahl der entstandenen Fachtermini geschaffen (107). In Ergänzung dazu wurde bald darauf die Bezeichnung "Allergen" für den auslösenden Reaktionskörper vorgeschlagen (107). Erste Bemühungen um eine fundierte Behandlung allergischer Reaktionen führten 1913 zum Konzept der desensibilisierenden Therapie durch Weil (111) sowie Freeman und Noon (143). In der Folgezeit entwickelten sich verschiedene Theorien zur Erklärung der beobachteten allergischen Phänomene (Tab. 1).

Tabelle 1. Wichtige Konzepte zur Pathophysiologie der Atopie n. Ring (121)

Anaphylaxie	Richet, Portier	1902
Allergie	v. Pirquet	1906
Familiäres Auftreten	Cooke	1916
Übertragbare Überempfindlichkeit	Prausnitz, Küstner	1921
Atopie	Coca, Cooke	1923
Reagine bei Atopie	Coca, Groove	1925
Histaminbeteiligung	Bartosch, et al.	1932
Vegetative Dysregulation	Korting	1954
Genetische Zusammenhänge	Schnyder	1960
Typ I - Reaktion	Coombs, Gell	1963
Immunglobulin E	Ishizaka et al.	1966
	Johansson et al.	1967
ß-Blockade	Szentivanyi	1968
Releasability	Lichtenstein et al.	1977
Fc -Rezeptor auf Lymphozyten	Spiegelberg et al.	1978
IgE-binding factor	Ishizaka et al.	1981

So vertrat z. B. die französische Schule um G.F. Widal die humorale Theorie mit den sogenannten "crises haemorrhagiques" (130), während in den USA das zelluläre Geschehen im Vordergrund stand (130). Die Frage der "Psychoallergie" wurde ebenso diskutiert wie das Vorhandensein einer "konstitutionellen Allergie" (98). 1926 wurde von Th. Brugsch und A. Sylla der Begriff "allergische Diathese", den Czerny kurz zuvor formuliert hatte, als Ausdruck für Allergiebereitschaft eingeführt (147). Vier Jahre später prägte E. Hoffmann den Begriff "Allergose" für allergische Krankheiten und deren typische Erscheinungsbilder (59). Während jener Zeit hatte sich in den USA die Lehre von der "Atopie" - begründet von A.F. Coca und R.A. Cooke - rasch weiterentwickelt (1). Nach Coca sollten damit diejenigen allergischen Krankheiten erfaßt werden, bei denen nicht immer eindeutige, auf einem vorausgegangenen Kontakt mit einem Allergen beruhende Ursachen gefunden werden konnten, und die größtenteils angeboren schienen. Bei der Atopie sei bereits von Geburt an ein besonderer Antikörper im Organismus vorhanden, das "atopische Reagin" (33). Zu den atopischen Krankheiten zählte er solche mit Sofortreaktion, wie das Heufieber, das Asthma bronchiale, die Arzneimittelexantheme und auch das sogenannte endogene Ekzem. Als Oberbegriff diene die bewährte Bezeichnung "hypersensitiveness" (31). Coombs und Gell schließlich schufen eine Einteilung der pathologischen Immunreaktion in vier Hauptgruppen, die - mit Ergänzungen - auch heute noch Gültigkeit hat.

1.2. Der atopische Symptomenkomplex

Reindert Voorhorst, der Mitte der fünfziger Jahre den Begriff "atopisches Syndrom" prägte, verhalf der bis

dahin angezweifelten Coca'schen Atopielehre zu neuem Aufleben (130). Unter dem vom Griechischen a-topos (nicht am richtigen Ort, auffällig, ungewöhnlich) abgeleiteten Begriff Atopie - auf Vorschlag des Altphilologen Perry hin von Coca geprägt - wird gemäß neuerer Definitionen die anlagemäßige Bereitschaft zu Krankheiten wie Rhinitis allergica, allergischem Asthma und atopischem Ekzem verstanden (121). Neben diesen drei wichtigsten atopischen Erkrankungen müssen jedoch auch die allergische Konjunktivitis und die Nahrungsmittelanaphylaxie erwähnt werden. Während in der Kindheit das Ekzem am häufigsten auftritt, so herrschen beim Erwachsenen zunächst die allergische Rhinitis und dann das Asthma vor (121). Die Vererbbarkeit der atopischen Disposition wie auch der spezifischen Krankheitsbereitschaft wird durch den Stammbaum einer mit Atopie belasteten Familie deutlich (Abb. 1).

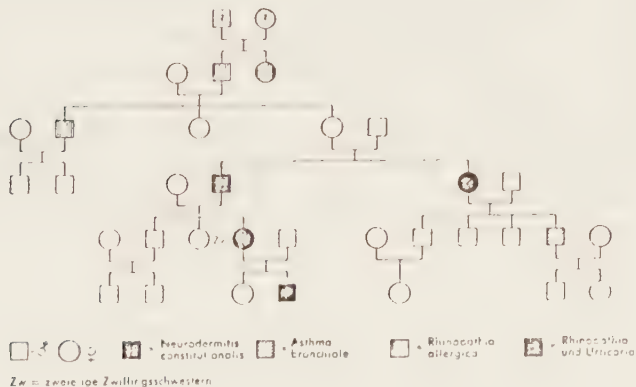


Abbildung 1. Stammbaum der Atopie-belasteten Familie Sch.
(aus (308))

Der Bedeutung der Allergieproblematik entsprechend existiert auch für atopische Krankheiten eine Fülle an kli-

nischen Beschreibungen und diagnostischen Methoden (Tab. 2), wobei der Anamnese und dem klinischen Befund großes Gewicht zukommen.

Tabelle 2. Wichtige Schritte in der Diagnostik atopischer Erkrankungen

A. Diagnostische Möglichkeiten :	B. Stigmata des atopischen Ekzems
- Anamnese	- Seborrhoe
- In-vivo-Verfahren (Hautteste, Schleimhautprovokationsteste, passive kutane Anaphylaxie, Antigenkarenz)	- Ichthyosis-Hände/-Füße
- In-vitro-Verfahren (serologisch: Gesamt-IgE-spezifisches IgE zellulär: Lymphozytentransformation, Histaminfreisetzung, Eosinophilengranulation)	- lineare Fingerkuppenfurchen
	- pelzappenförmiger Haarsatz
	- Kertogene-Leichen
	- gedoppelte Unterlidfalte (Dennie-Morgan)
	- infraaurikuläre Einrisse
	- weißer Dermographismus
	- gesteigerte Pilorektion

Neben den physiologischen Funktionen der Haut muß man auch ihre Bedeutung als Ausdrucksmittel akuter Gefühlsbewegungen, typischer Verhaltensweisen und chronischer seelischer Belastungen festhalten. Im letzten Jahrhundert waren es vor allem die französischen Dermatologen Brocq und Jacquet, die chronische Ekzeme mit seelischen Verarbeitungen in Verbindung brachten und diese deshalb global als Neurodermitis bezeichneten (17). Heute noch bezeugt die Vielzahl gängiger Synonyma die komplexen ätiologisch-pathogenetischen Vorstellungen zu dieser dermatologischen Erkrankung (Tab. 3).

Tabelle 3. Synonyma für atopisches Ekzem

n. Ring (121)

- Prurigo diatrésique	Besnier
- Neurodermite diffuse	Brocq
- Asthma-Ekzem	Jadassohn
- Früh- bzw. spätexsudatives Ekzematoid	Kost u. Marchionini
- Endogenes Ekzem	Gotttron u. Korting
- Atopic dermatitis	Sulzberger
- Neurodermitis constitutionalis sive atopica	Borelli u. Schnyder

Insgesamt haben die atopischen Krankheiten eine erhebliche praktische Bedeutung durch die Tatsache, daß die Patienten - insbesondere bei Vorliegen eines atopischen Ekzems - zumeist für lange Zeit darunter leiden. Ein gemeinsames Charakteristikum ist dabei eine "Überempfindlichkeit von Haut und Schleimhäuten, eben jener Grenzflächen, an denen sich zunächst die Auseinandersetzung des Organismus mit seiner Umwelt abspielt" (121).

Schon früh in der Geschichte der Atopieforschung erscheinen Hinweise auf familiäre Häufung, wobei Schnyder einen unregelmäßig dominanten Erbgang für die Atopiebereitschaft vermutet (132). Zahlreiche Faktoren begünstigen die Manifestation von atopischen Krankheiten (Abb. 2).

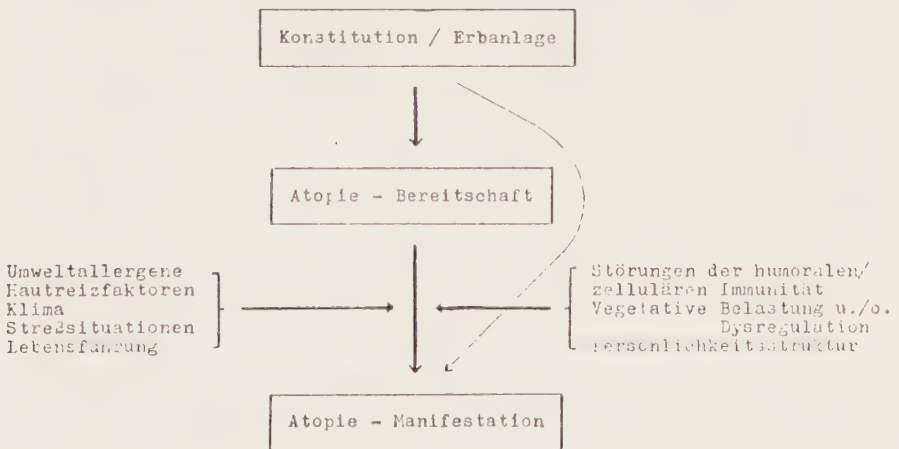


Abbildung 2. Bedeutung verschiedener Faktoren für die Atopie-Manifestation

Eine auffällige Beobachtung stellen die bei Atopikern immer wieder zu sehenden Abweichungen der pharmakologi-

schen Reaktivität dar (Tab. 4). Szentivany lenkte mit seiner Theorie der β -adrenergen Blockade den Blick auf klinisch-chemische Phänomene, denen eine Antwortschwäche auf β -adrenerge Reize (" β -Blockade") zugrunde liegt. Weitere Arbeiten fanden zusätzlich eine α -adrenerge und cholinerge Überreaktivität (148). Pathophysiologisch zeigt sich eine Verknüpfung mit dem intrazellulären Funktionssystem der zyklischen Nukleotide (21).

Tabelle 4. Veränderte pharmakologische Reaktivität bei Atopie n. Ring (121)

Abnorme Gefäßreaktionen

- Weißreaktion durch Nikotinsäureester
- "Delayed blanch" durch Azetylcholin
- Fehlendes Erythem nach Histamin
- Weißer Dermographismus
- Verzögerte Kälte-Reaktion
- Akrale Vasokonstriktion
- Veränderte Gewebereaktivität auf vasoaktive Mediatoren (z.B. Kalikrein, Serotonin, PGE₂)

Abnorme Reaktionen glatter Muskulatur
Veränderte Schweißsekretion
Verstärkte Pilomotorienreaktion
 β -adrenerge Blockade
 α -adrenerge Überreaktivität
Cholinerge Überreaktivität
Veränderte "Releasability"

Als Ishizaka und Mitarbeiter 1966 ein neues Immunglobulin, das IgE, beschrieben und Johansson et al. größere Mengen davon in Form des ersten IgE-Myeloms untersuchten, war damit das lange vorher postulierte Reagin immunologisch faßbar geworden (64). Die IgE-vermittelte Reaktion wird durch eine Brückenbildung zwischen dem Allergen und zwei rezeptorgebundenen IgE-Molekülen auf der Mastzell- bzw. Basophilenoberfläche in Gang gesetzt (66). Erhöhte IgE-Serumspiegel bei Atopikern wurden beschrieben, sogar eine gewisse Korrelation zwischen Schweregrad der Erkrankung und Konzentration des gemessenen IgE ließ sich feststellen.

Waren auch die höchsten Serum-IgE-Werte beim atopischen Ekzem gemessen worden, so zeigten jedoch IgE-Vermehrungen z. B. bei Parasitosen, manchen Tumoren, Lepra usw., daß hiermit auch nur ein Teilaspekt im Atopiekonzept beschrieben werden konnte. Eine Erbllichkeit der IgE-Bildung wurde nachgewiesen. Anscheinend wird dabei die Immunantwort einerseits als Antigen-unspezifische Kontrolle, z. B. als Merkmal "hohes IgE" (autosomal rezessiv), wie auch andererseits über "Immun-response"- und "Immun-response-suppressing"-Gene in Koppelung an das HLA-System Antigen-spezifisch, z. B. als spezifische IgE-Antikörper, reguliert (91).

Häufige Hautinfekte, wie z. B. die beim atopischen Ekzem komplizierend auftretenden hartnäckigen Dermatophyteninfektionen, das Eccema herpeticatum und die häufige Impetiginisierung weisen auf die ebenfalls gestörte zelluläre Abwehr bei Atopikern hin (120). Einige Autoren fanden einen erniedrigten prozentualen Anteil der T-Zellen an den Gesamtlymphozyten (141, 72). Über in vitro Tests mit Lymphozyten-subpopulationen wurde zusätzlich ein Defekt der T-Suppressor-Zellen als mögliche Ursache für die gesteigerte IgE-Bildung vermutet (141). Jedoch erweist sich eine befriedigende Zellcharakterisierung über Oberflächenantigene mittels spezifischen Antikörpern z. T. als problematisch, da das Membranrezeptorverhalten nicht unbedingt einheitliche funktionelle Zustände der Lymphozyten widerspiegelt (73).

Die Frage nach Zusammenhängen zwischen erhöhter IgE-Bildung und Immunschwäche drängt sich besonders auf beim Hyper-IgE-Syndrom, bei dem maximale IgE-Konzentrationen, Störungen der zellulären Immunität und Hauterscheinungen (meist im Sinne eines atopischen Ekzems) nebeneinander zu finden sind. Somit mag der von J. Ring beschriebene "Circulus vitiosus der Atopie" die Verkettung von familiär auftretender Überempfindlichkeit von Haut und Schleimhäuten mit veränderter

pharmakologischer Reaktivität, gestörter T-Zell-Regulation und erhöhter IgE-Bildung aufzeigen.

Circulus vitiosus der Atopie

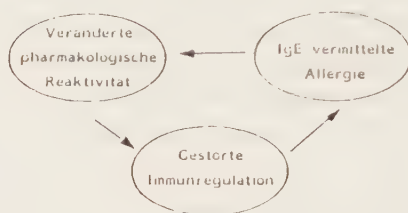


Abbildung 2a. Circulus vitiosus der Atopie n. Ring (121)

Nach wie vor existieren jedoch Beobachtungen, die nicht nahtlos zu einem Pathogenesegebäude zusammensetzbar sind. Zahlreiche Teilaspekte der atopischen Erkrankungen bleiben weiterhin ungeklärt.

1.3. Ziel der vorliegenden Arbeit

In der vorliegenden Arbeit sollten mögliche Regulationsmechanismen der allergischen Reaktion in der in vitro Lymphozytenkultur untersucht werden. Durch spezifische Abtrennung wurde die Bedeutung von Monozyten und der Suppressorzell-Subpopulation besonders geprüft. Dabei wurden die Parameter Zellproliferation und in vitro IgE-Sekretion bei einer Gruppe von Atopikern sowie nicht-atopischer Kontrollpersonen gemessen und verglichen. Ferner wurde der Einfluß der bei atopischen Erkrankungen bedeutenden Mediators substanz Histamin auf T-Zell-abhängige Reaktionen untersucht. Die Ergebnisse sollten im Hinblick auf wichtige klinische Daten sowie Laborparameter wie Eosinophilenzahl und gesamt-Serum-IgE gewertet werden.

Neben Kontrollen und Atopikern konnten auch Blutproben von acht Leprapatienten untersucht werden.

Im einzelnen sollten folgende Fragen beantwortet werden:

- Wie hoch ist der Anteil von eosinophilen Granulozyten im Differentialblutbild bei Atopikern im Vergleich zu Normalpersonen?
- Gibt es eine Korrelation zu Plasma-IgE und zu in vitro IgE?
- Welchen Einfluß haben Monozyten auf Zellproliferation und/oder in vitro IgE in der Lymphozytenkultur?
- Gibt es dabei Unterschiede zwischen Zellkulturen von Atopikern und Normalpersonen?
- Wie unterscheiden sich Suppressorzellpopulationen von Atopikern und Normalpersonen in vitro?
- Welchen Einfluß haben Mitogene, Allergene und Histamin auf in vitro Lymphozytentransformation und IgE-Sekretion?
- Korrelieren Plasma-IgE und in vitro IgE-Sekretion?
- Wie verhalten sich Zellproliferation, Plasma-IgE und in vitro IgE-Sekretion bei Leprapatienten?

2. Material und Methodik

2.1. Patienten und Kontrollpersonen

Bei den im Zeitraum von Februar 1983 bis Dezember 1983 durchgeführten Lymphozytentransformationstests wurden - nach erfolgter Einwilligung - die Blutproben von 23 Patienten mit atopischen Erkrankungen, von 8 Patienten mit Lepra und von 14 Kontrollpersonen bearbeitet.

Von den Atopie-Patienten waren 9 weiblichen, 14 männlichen Geschlechts. Das Durchschnittsalter lag bei 32,6 Jahren, wobei der älteste der teils ambulant, teils stationär betreuten Patienten 61 Jahre alt war, der jüngste 15 Jahre.

Bei jedem Patienten wurde eine ausführliche Allergieanamnese erhoben - meistens kombiniert mit Allergietestung - sowie eine Blutprobe (20 ml - 40 ml Heparin-Blut) entnommen. Da als Patienten Personen mit Erkrankungen aus dem atopischen Formenkreis gelten sollten, wurden als Auswahlkriterien eine positive Eigenanamnese, eine positive Allergietestung und der ermittelte Serum-IgE-Wert herangezogen. Serum-IgE-Konzentrationen von mehr als 100 U/ml wurden als pathologisch erhöht gewertet. Bei Erhebung der Eigenanamnese wurde besonders auf Bestehen oder erinnertes Auftreten von atopischem Ekzem, allergischer Rhinokonjunktivitis oder allergischem Asthma bronchiale geachtet. Wenn eindeutig aus den Patientenangaben erkennbar, wurde die Familienanamnese im Hinblick auf atopische Krankheiten als positiv gewertet.

Einige Patienten hatten bereits seit ihrer Kindheit atopisches Ekzem, bei anderen waren nur Erscheinungen am

Respirationstrakt bekannt oder es lagen Mischformen vor. Somit konnten Untergruppen gebildet werden, wobei Patienten mit Insektengiftallergie, Patienten unter Hyposensibilisierungsbehandlung, die Leprapatienten und die beiden Patientinnen mit Phenylketonurie eine Sonderstellung einnahmen.

Eine Zusammenfassung der wesentlichen klinischen Daten der Patienten ist in Tab. 5 aufgeführt. Diese Angaben beziehen sich auf den Zeitpunkt der Untersuchung. Die Ergebnisse eventueller weiterer Allergiediagnostik sind angegeben. Die aufgeführten Serum-IgE-Werte wurden parallel zum LTT bestimmt. Keiner der Patienten stand zum Zeitpunkt des Tests unter systemischer Steroidtherapie. Die vom untersuchenden Arzt vorläufig gestellte Diagnose wurde - falls nicht später revidiert - in die Tabelle aufgenommen.

Die Kontrollgruppe setzte sich aus 6 weiblichen und 8 männlichen Probanden zusammen. Das durchschnittliche Alter lag bei 33,8 Jahren, Grenzwerte waren 65 Jahre bzw. 12 Jahre. Als Kontrollperson durfte gelten, wer folgende drei Bedingungen erfüllte:

- Keine anamnестischen Anhaltspunkte für atopische Krankheiten oder sonstige allergische Reaktionen,
- Serum-IgE-Spiegel unter 100 U/ml.
- Pricktest mit Aeroallergenen (wenn durchgeführt) negativ.

Einige Daten der zum Teil aus dem Patientengut der Dermatologischen Universitätsklinik, zum Teil aus dem Klinikpersonal stammenden Kontrollpersonen sind in Tab. 6 zusammengefaßt. Die Nummernzuteilung erfolgte wie zuvor in der Patientengruppe alphabetisch.

Tabelle 5. Klinische Daten der Patienten mit IgE-vermittelten Erkrankungen

Nr	Name	Alter, Geschlecht	Eigenanamnese	Familienanamnese	Plasma-IgE (U/ml)	Hauttest	nAST
1▲	K.B.	56 m	G _B	?	60	++(G _B)	
2	J.B.	38 m	A, E, S	+	4842		
3	C.B.	22 w	E, S	?	300		
4	V.B.	21 w	E, S	?	900		
5	M.E.	29 m	G _W , R	-	900	+++ (P)	R3 (E)
6	H.F.	61 m	G _W	-	30	+++ (P, K)	
7	H.Fr.	27 m	A	+	/	++ (F)	
8	G.H.	51 w	A	?	100	++ (I)	
9	E.K.	59 w	K, U	+	/	++ (F, M)	
10	A.L.	22 w	E, A, R	+	1100		
11	J.L.	21 m	R	+	144	+(F)	R2 (F)
12	U.H.	35 w	R	?	110		
13	B.F.	20 m	R	?	240	+++ (F, K)	
14▲	T.F.	59 w	G _B	?	10		R2 (G _B)
15▲	L.L.	15 m	G _W	+	72		R2 (G _W)
16	S.R.	48 m	A	?	240	+++ (M)	R2 (M)
17	J.R.	38 m	R	+	120	++ (P)	
18	I.S.	17 m	A, R, E	+	489		R2 (M, P)
19	K.S.	41 m	A, R	?	>1200		
20	K.S.	25 w	A, R	+	140	+++ (F)	
21	B.S.	23 w	E, R	+	1370	+++ (F, E, K)	
22	P.T.	27 m	R	+	/	+++ (F, K)	
23▲	H.W.	30 m	R	+	48		

A = Asthma
 E = atopisches Ekzem
 S, G_W = Bienengift, Wespengift
 I, B = Rhinitis allergica
 S = Sonstige Allergie
 U = Urtikaria

K = Katzenepithel
 E = Milbenextrakt
 F = Gräserpollen
 ▲ = Patienten unter Hyposensibilisierungsbehandlung
 ◆ = Patient mit Phenylketonurie

Tabelle 5a. Klinische Daten der Kontrollpersonen

Nr	Name	Alter	Geschlecht	Plasma-Ins (U/ml)
24	M.B.	65	m	15
25	A.D.	52	m	40
26	B.G.	28	w	20
27	I.G.	56	w	< 10
28	E.H.	32	w	< 5
29	G.H.	41	w	110
30	E.H.	20	m	80
31	K.L.	24	m	80
32	D.L.	37	w	30
33	W....	25	m	/
34	H.W.	40	m	20
35	R.T.	21	w	80
36	A.W.	26	m	80
37	A.E.	12	m	20

Der insgesamt für die Untersuchungen in Frage kommende Probandenkreis war nur durch die oben genannten Bedingungen fest definiert, die weitere Auswahl war vom Zufall geleitet.

2.2. Reagentien

2.2.1. Reagentien zur Lymphozytengewinnung

Zur Auftrennung der im Probandenblut enthaltenen zellulären Bestandteile mittels Dichtegradientenzentrifugation verwendeten wir eine Kombination aus dem Polysaccharid Ficoll 400 und Na-EDTA (Ficoll-Paque, Pharmacia Uppsala). Als Waschlösung für die mit obigem Arbeitsschritt erhaltenen peripheren mononukleären Zellen diente eine modifizierte, Kalziumphosphat-gesättigte Hanks'sche Lösung:

Modifizierte Hanks'sche Lösung:

Hanks'sche Lösung	100 ml (Apotheke der klin. Universitätsanstalten München)
+ Hepes Puffer, 1 M	2 ml (Gibco)
+ Antimykotische- Antibiotische Lösung	1 ml (Gibco)

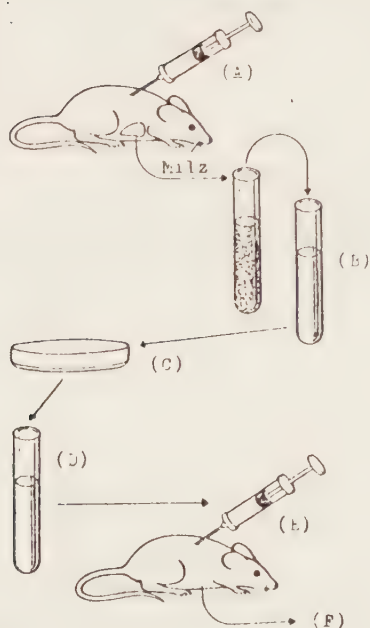
(Einzelbestandteile siehe Anhang)

Zur Monozytenabtrennung wurde eine Aufschwemmlösung benötigt, die aus gleichen Teilen Kulturmedium (modifiziertes RPMI, siehe 2.2.2.) und fötalem Kälberserum (FCS, Gibco) bestand.

Für die Isolierung der T-Suppressor-Lymphozyten wurden uns freundlicherweise folgende, von Prof. P. Rieber und Mit-

arbeitern im Institut für Immunologie, Universität München, entwickelte Substanzen (Abb. 3, Tab. 6) zur Verfügung gestellt:

- Monoklonale Mäuseantikörper vom Typ T 811 gegen ein aus zwei Polypeptidketten bestehendes Oberflächenmolekül von Thymus-abhängigen T-Lymphozyten mit Suppressorfunktion auf die B-Lymphozytentransformation zu Immunglobulin-sezernierenden Plasmazellen (Tab. 6)
- Ochsenerythrozyten, beschichtet mit $F(ab')_2$ -Fragmenten von Kaninchen-IgG-Antikörpern gegen Mäuse-Ig (117).



Beimpfung von Mäusen mit monoklonalen T-Zellen eines Patienten mit chronisch lymphatischer Leukämie vom T-Cell-Typ (A)

Fusion der Mäusemilzzellen mit Myelomzellen (B)

Selektion der Immunglobulin-sezernierenden Klone (C)

Testung der spezifischen Bindungsfähigkeit mittels der für die Immunisierung benützten Leukämiezellen (D)

Intraperitoneale Injektion der selektierten Hybridomzellen (E)

Isolierung der monoklonalen Antikörper aus Ascitesflüssigkeit (F)

Abbildung 3. Herstellung des monoklonalen Antikörpers T 811

Tabelle 6 . Wichtige Eigenschaften des T 811 Antikörpers

- Maus-Immunglobulin vom Isotyp G₁ (nicht Komplement-aktivierend)
- Selektive Reaktivität mit aus 2 Polypeptidketten aufgebautem T-Zell-Oberflächenprotein (= T 811-Antigen)
- Bindung an T-Zellen (= T 811⁺ Zellen) mit zytotoxischer Aktivität und Suppressoreffekt auf die B-Zelldifferenzierung zu Immunglobulin-sezernierenden Zellen

Bei der zusätzlichen Abtrennung der rosettierten T-Suppressor-Lymphozyten über einen Dichtegradienten lagen die unbeladenen peripheren mononukleären Zellen oberhalb der unten beschriebenen kolloidalen Polysaccharid-/Salzlösung (modif. Percoll, Pharmacia Uppsala), mit Brechungsindex 1,345 bei 25 °C.

Modifizierte Percoll-Lösung:

Percoll	100 ml	(Pharmacia Uppsala)
+ Hanks'sche Lösung	9 ml	(Apotheke der klin. Universitätsanstalten München)
+ NaCl 0,9 %	75 ml	(Apotheke der klin. Universitätsanstalten München)

(Einzelbestandteile siehe Anhang)

Vitalitätsprüfung

Die Vitalität der erhaltenen Lymphozyten wurde mit Trypanblaulösung überprüft:

0,2 % wäßrige Lösung		(Apotheke der klin. Universitätsanstalten München)
Trypanblau	2 ml	
4,25 % NaCl-Lösung	0,5 ml	(Apotheke der klin. Universitätsanstalten München)

Die für die Rosettenzählung benötigte Kristallviolett-lösung setzte sich folgendermaßen zusammen:

20 mg Kristallviolett auf 2 ml Methanol, ca. zehnfache Verdünnung dieses Ansatzes mit Hanks'scher Lösung

Zur Bestimmung eventuell verbliebener 811^+ T-Zellen wurden verwendet:

Antikörper T 811

Waschlösung

Fluoreszein-markierte Antikörper gegen Maus IgG
(Fa. Medac, Hamburg)

FCS-Azid-Lösung (50 ml FCS inaktiviert + 500 ml
2 %ige Natrium-Azid-Stammlösung)

2.2.2. Reagentien für die Lymphozytenkultur

Für die durchgeführten Versuche wurde das Zellkulturmedium RPMI 1640 (Fa. Seromed, München) mit folgenden Substanzen angereichert:

RPMI 1640	100 ml
+ HEPES Puffer, 1 M	2 ml
+ MEM Vitamine	1 ml
+ Nichtessentielle Aminosäuren	1 ml
+ L-Glutamin	1 ml
+ Antimykotisch-Antibiotische Lösung	1 ml
+ Fetales Kälberserum	10 ml

(Einzelbestandteile siehe Anhang)

Mitogene

Zur Induktion der Zellteilung wurden in den Kulturansätzen folgende Mitogene (Tab. 7) verwendet:

Pokeweed-Mitogen (PWM),

die Stammlösung (Fa. Seromed, Konzentration 0,5 mg/5ml) wurde mit Hanks'scher Lösung auf 1 : 100 verdünnt. Der Ausdruck PWM gilt für fünf (Pa 1-5) aus der Pflanze *Phytolacca americana* (Amerikanische Kermesbeere) isolierte Mitogene mit Molekulargewicht zwischen 20.000 D und 30.000 D. Diesen werden insbesondere T- und B-Lymphozyten-stimulierende Wirkungen zugeschrieben, welche über eine Bindung an Membranrezeptoren ablaufen (79,169).

Phytohämagglutinin (PHA)

Gemäß der Angaben der Herstellerfirma Gibco wurde das PHA-Lyophilisat mit 10 ml Aqua bidest. aufgelöst. Zur Anwendung im LTT wurde die empfohlene Konzentration von etwa 10 µg/ml eingehalten. Als Phytohämagglutinin werden aus dem Samen bestimmter Bohnen (*Phaseolus vulgaris* oder *Phaseolus communis*) extrahierbare Lektine bezeichnet, die nach teilweiser Reinigung in proteinreicher Form als PHA-P oder als glykoproteinreiche Form PHA-M vorliegen (57). PHA agglutiniert bestimmte Erythrozyten zufolge seiner Affinität zu N-Acetyl-β-D-galaktosamin-Resten. In löslicher Form ist es für T-Lymphozyten von Mensch und Maus ein starkes Mitogen. Dieser Effekt scheint mit der Bindung an Membranrezeptoren und anschließender Erhöhung von Ca^{++} -Strom und cAMP-Konzentration verknüpft. Auf unlöslicher Matrix stellt es auch für B-Lymphozyten ein Mitogen dar.

Concanavalin A (ConA)

Das in steriler, kristallisierter Form vorliegende ConA (Fa. Carl Roth, Karlsruhe) wurde nach Auflösen in Aqua bidest. in einer Konzentration von etwa 3 µg/ml als Mitogen verwendet. Das aus der Bohne canavalia ensiformis gewonnene Lektin ConA bindet Glykopyranoside, Mannopyranoside und Fruktofurosamide. Da diese Stoffe normale Bausteine der Zellmembran sind, bindet sich ConA an Zellen. Als Tetramer bildet ConA Proteinaggregate an der Zellmembran und ändert deren Beweglichkeit (36). Außerdem agglutiniert es verschiedene Zellarten und wirkt als Mitogen, insbesondere bei T-Lymphozyten (79).

Tabelle 7 . Polyklonale Zellteilungsaktivatoren von T- und B-Lymphozyten

Mitogen :	T-Lymphozyten	B-Lymphozyten
Lipopolysaccharid	-	+
Dextransulfat	-	+
FPD +)	-	+
Pokeweed-Mitogen	+	+
Phytohemagglutinin	+	..
Concanavalin A	+	-

+) = purified protein derivate = spezifisches Tuberkuloprotein

Tabelle modifiziert n. (79)

Allergene

Verwendet wurden antigene Substanzen, die bevorzugt eine IgE-Bildung induzieren und bei Atopikern allergische Reaktionen auslösen. Dabei beschränkten wir uns auf die drei in Mitteleuropa am häufigsten verantwortlichen Allergene Katzenepithel, Hausstaubmilbe und Gräserpollen. Für die Zellkulturversuche wurden die im Verhältnis 1 : 10 verdünnten Intrakutantestlösungen der jeweiligen Allergene (Bencard-Allergie-Dienst, Fa. Beecham-Wülfig, Neuß) verwendet. Von der Herstellerfirma werden diese Allergenextrakte standardisiert mittels ihrer allergisierenden Wirkung auf als

Allergiker bekannte Probanden. Als Konzentrationsangaben sind geläufig:

- Gewicht pro Volumen (weight/volume = w/v) als Ausdruck für das Trockengewicht des allergenen Ausgangsmaterials in 100 ml Extraktionsflüssigkeit,
- Noon-Einheiten, wobei eine Noon-Einheit (1NU) den Extrakt aus 1 µg Ausgangsmaterial darstellt.

Katzenepithel

Intrakutantestlösung (Fa. Beecham-Wülfig) mit der Allergenkonzentration 0,5 % w/v

Nach Angaben des Herstellers dienten Katzenhaare und -schuppen verschiedener Katzenrassen zu ihrer Herstellung.

Hausstaubmilbe (Dermatophagoides pteronyssinus)

Intrakutantestlösung (Fa. Beecham-Wülfig) mit der Allergenkonzentration 1,2 % w/v

Die Lösung besteht aus Hausstaubmilbenextrakt, wobei hauptsächlich Allergene aus dem Verdauungstrakt dieser Milbenart für das Entstehen von Hausstaubmilbenallergie verantwortlich gemacht werden (36).

Gräserpollen

Intrakutantestlösung (Fa. Beecham-Wülfig) mit der Allergenkonzentration 0,02 % w/v

Zur Herstellung dieses Extraktes wurden die Pollen von zwölf wichtigen, allergieauslösenden Gräserarten verarbeitet.

Histamin

Histamin-Phosphat lag als Injektionslösung (Fa. Eli Lilly & Co., Indiananapolis) vor in der Konzentration 1 mg/ml. Zur Verdünnung wurde RPMI Kulturmedium benützt. Histamin, ein basophiles Amin, entsteht durch Decarboxylierung des Histidins. Es findet sich in Mastzellen und Basophilen, bei gewissen Tierarten auch in den Blutplättchen. Es wirkt als Vasodilatator und Konstriktor der glatten Muskulatur, außerdem erhöht es die Gefäßpermeabilität.

Methyl-³H-Thymidin

Das radioaktiv markierte Thymidin in wäßriger Lösung (Fa. Amersham-Buchler International, Braunschweig) mit einer Zerfallsrate von 5 Ci/nmol wurde vor Einbringen in die Kulturansätze im Verhältnis 1 : 30 verdünnt. Das instabile Nuklid Tritium (³H) sendet beim Zerfall ein Elektron aus (β -Strahler), die Zerfallshalbwertszeit beträgt 12,36 Jahre.

Die bei der Datenregistrierung verwendeten Substanzen werden im Rahmen der Beschreibung von Zellvermehrungsmessung und Bestimmung der IgE-Werte mit erwähnt.

Ebenso soll das Arbeitsmaterial im folgenden Abschnitt beschrieben werden.

2.3. Versuchsbeschreibung

2.3.1. Überblick

Mononukleäre Zellen (Monozyten und Lymphozyten) wurden aus venösem Vollblut mittels Dichtegradientenzentri-

fugation isoliert. Anschließend sollte das Verhalten von Lymphozyten unter Kulturbedingungen in Gegenwart von relativ unspezifischen Stimulatoren (PWM, PHA, ConA), von Allergenen (Katzenepithel, Hausstaubmilbe, Gräserpollen) sowie von Histamin mit Hilfe der Parameter Zellvermehrungsrate und in vitro IgE untersucht werden. Zusätzlich wurden bei den meisten Blutproben die T-Suppressor-Zellen für einen parallel laufenden Test abgetrennt. Die einzelnen Arbeitsgänge dieser Lymphozytentransformationstests sind in Abb. 4 schematisch dargestellt und werden im folgenden erläutert.

2.3.2. Lymphozytentransformationstest (LTT)

2.3.2.1. Vorbereitung

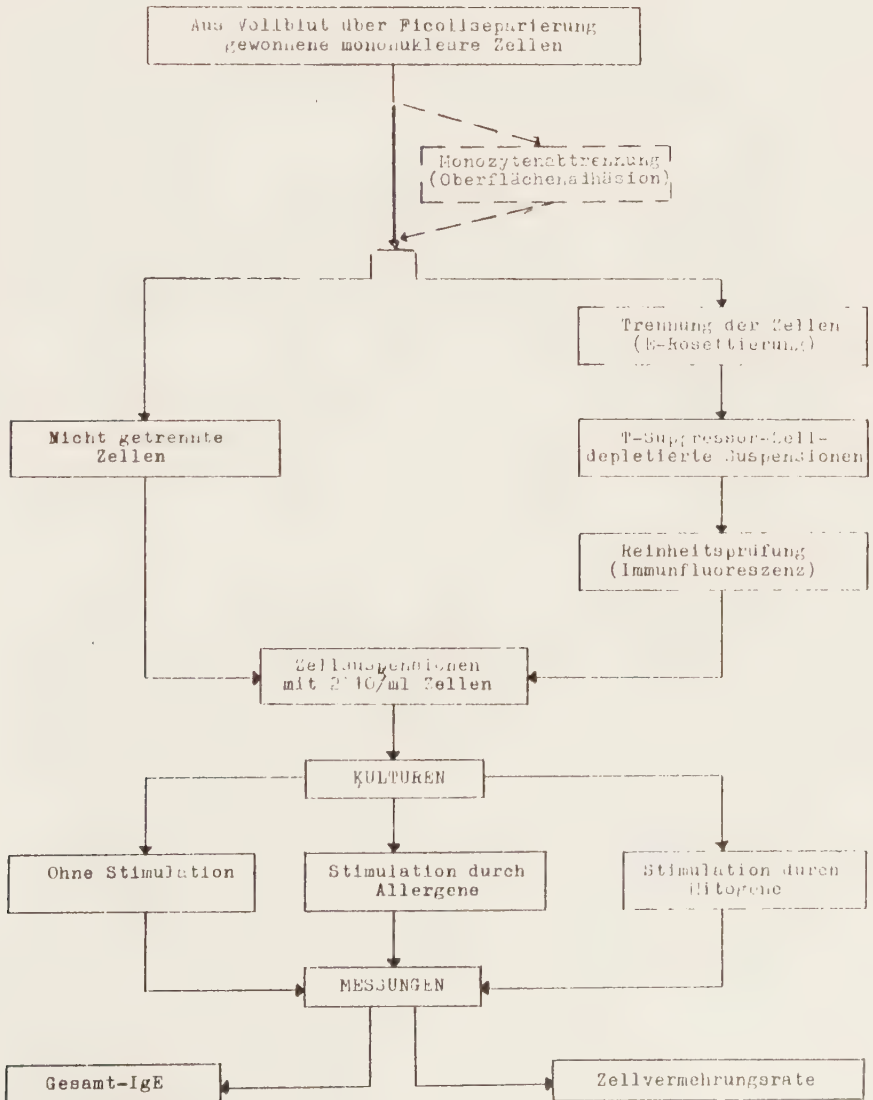
Alle für die Arbeitsgänge des jeweiligen Versuchstages nötigen Reagentien wurden im Wasserbad auf eine Temperatur von 37 °C gebracht bzw. für die Suppressorzellabtrennung in Eiswasser vorgekühlt. Der Versuchsbeginn lag in den Vormittagsstunden, da zu dieser Zeit die Blutabnahmen (kein Nüchternblut) stattfanden. Verarbeitet wurden von höchstens vier Versuchspersonen zwischen 20 ml und 40 ml peripheres Venenblut, das mit 0,1 ml Heparinlösung (5.000 U/ml, Fa. Medac, Hamburg) pro 10 ml Blut versetzt war. Die unter sterilen Bedingungen auszuführenden Versuchsabschnitte wurden an einem "laminar airflow"-Arbeitsplatz durchgeführt.

2.3.2.2. Lymphozytengewinnung

Nach Einpipettieren von jeweils 5 ml Ficoll-Paque in sterile, 12 ml fassende Zentrifugenröhrchen aus Kunststoff (Fa. Boll, München) wurden vorsichtig die einzelnen Blutproben in 5 ml Portionen

darübergeschichtet. Bei einem Großteil der Patienten wurde mit dem jetzt noch in den Spritzen vorhandenen Restblut ein Blutausstrich angefertigt.

Abbildung 4. Versuchsablauf im Überblick



Nach 20 Minuten Zentrifugation bei 37 °C und 2.600 Umdrehungen pro Minute (UPM) hatte sich oberhalb des Ficoll-Paque gemäß dem herrschenden Dichtegradienten eine Schicht aus mononukleären Zellen gebildet (Abb. 5).

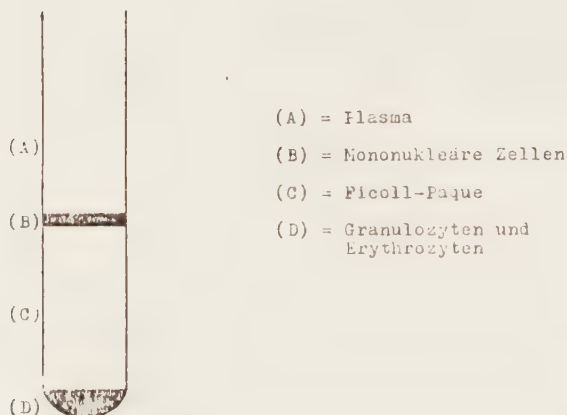


Abbildung 5. Zellauftrennung nach Dichtezentrifugation

Das darüber stehende Plasma wurde weitgehend abgesaugt, ein Teil davon wurde jedoch nicht verworfen, sondern wurde für die spätere Plasma-IgE-Bestimmung bei -20 °C eingefroren. Mit sterilen Pasteurpipetten wurden die Lymphozytenringe abgezogen und in ein 50 ml fassendes steriles Kunststoffröhrchen gefüllt. In 10 ml Waschlösung aufgeschwemmt, wurde die erhaltene Mischung aus Lymphozyten und Monozyten weitere 10 Minuten bei 37 °C und 1.200 UPM zentrifugiert. Nach Verwerfung des Überstandes folgte ein zweiter identischer Waschvorgang, um die Verunreinigung der späteren Zellkulturen durch verbliebene Plasmabestandteile möglichst gering zu halten.

Die Arbeitspausen während des Zentrifugierens wurden zum Anfärben der Blutausstriche nach Pappenheim genützt.

Die nach dem letzten Waschvorgang verbliebenen Zellen wurden nach Abpipettieren des Überstandes mit Kulturmedium auf 10 ml aufgeschwemmt und vermischt.

Um den Einfluß der hierbei enthaltenen Monozyten auf die späteren Versuchsergebnisse abschätzen zu können, wurde bei 5 Patienten die Hälfte der Zellsuspension in Zellkulturfläschchen aus Plastik (Fassungsvermögen 50 ml, Fa. Greiner, München) gegeben und bei 37 °C unter Ergänzung des Kulturmediums mit der gleichen Menge FCS eine Stunde im Brutschrank inkubiert. Über die ausgeprägte Fähigkeit zur Adhärenz an Plastikoberflächen sollten die Monozyten abgetrennt werden. Der Inhalt der Zellkulturfläschchen wurde anschließend in 50 ml fassende sterile Plastikröhrchen gekippt, wie auch die Nachspülflüssigkeit, und wiederum mit Kulturmedium auf 10 ml aufgeschwemmt. Die zurückgebliebenen Monozyten konnten im Durchlichtmikroskop (Fa. Zeiss) ausgemacht werden.

Zur Bestimmung der Zellkonzentration in diesen 10 ml-Portionen pro Patient wurde nach gutem Vermischen jeweils ein Tropfen Zellsuspension steril entnommen. Nach dem üblichen Verfahren wurden unter Verwendung von Leukozytenpipetten und Neubauerzählkammern (Fa. Assistent, München) die Zellen ausgezählt.

Da die geplanten Zellkulturen für jeden Probanden gleichzeitig mit der Lymphozytengesamtpopulation (PBL - Kultur) und einer T 811 depletierten Population (T 8⁻ - Kultur) angesetzt werden sollten, wurde ein entsprechend abgemessener Teil der vorliegenden Zellsuspension für die PBL - Kultur mit Kulturmedium auf die gewünschte Konzentration von 1 Million Zellen/ml eingestellt. Die Rest-

menge wurde im sogenannten Rosettierungsverfahren (siehe 2.3.3.) weiterverarbeitet und anschließend ebenfalls auf die oben genannte Zellkonzentration gebracht.

2.3.2.3. Lymphozytenkultur

Verwendet wurden Mikrotiter-Kulturplatten (Fa. Bioplast, Berlin) mit abgerundeten Vertiefungen, die nach abgeschlossener Beschickung abgedeckt wurden. Aufgeimpft wurden am ersten Tag des Versuches jeweils 200 μ l (also 2×10^5 Zellen) Zellsuspension pro Vertiefung, wobei anfangs Dreifachansätze, später Zweifachansätze der Zellkulturen erfolgten. Die Plattenränder wurden wegen der Verdunstungsgefahr freigelassen. Da die Herstellung der $T 8^-$ - Population einen ganzen Tag erforderte, wurden die mit kompletten Zellpopulationen beimpften Kulturplatten von Tag 1 zunächst im Brutschrank (Fa. Heraeus) bei 37 °C und Wasserdampf-gesättigter und mit 5 % CO_2 angereicherter Begasung belassen. Sobald am Tag 2 auch mit $T 8^-$ - Populationen beschickte Kulturplatten vorlagen, konnten 20 μ l-Portionen der Mitogen- bzw. Allergenlösungen zugegeben werden. Zur exakten Verteilung der verschiedenen Lösungen, die dafür in sterile Einmalspritzen abgefüllt wurden, dienten 20 μ l- bzw. 200 μ l-Dispenser der Fa. Hamilton. Zum Mengenausgleich wurden auf die Leerkulturen jeweils 20 μ l Kulturmedium pipettiert.

Anschließend wurden die Kulturansätze im oben genannten Brutschrank unter denselben Bedingungen bis zum Tag 5 inkubiert. Jetzt erfolgte die Markierung mit 3H -Thymin. Jeweils 20 μ l der Methyl- 3H -Thyminlösung wurden auf die Kulturansätze pipettiert. Der zeitliche Abstand zum Kulturbeginn lag bei ca. 70 ± 3 Stunden und entsprach damit den Literaturangaben zur Radionuklidaufnahme im LTT (30).

Vierundzwanzig + 2 Stunden später wurde der Versuch gestoppt und es erfolgten die Arbeitsschritte zur Zellernte und Gesamt-IgE-Bestimmung (siehe 2.3.4.).

2.3.3. Isolierung der T-Suppressorzellsubpopulation

2.3.3.1. Rosettierungsverfahren

Um möglichst selektiv T-Suppressor-Lymphozyten von der Gesamtzahl der vorhandenen Lymphozyten abtrennen zu können, wurde nicht das von Dwyer und Toshiv (39) 1977 beschriebene direkte Erythrozytenrosettierungsverfahren angewendet, sondern es wurde eine indirekte Erythrozytenrosettierung durchgeführt. Dabei wurden mit T 811 Antikörpern beschichtete T-Suppressorzellen mit Ochsenerythrozyten beladen und über Dichtegradientenzentrifugation aus der Lymphozytensuspension entfernt. Alle verwendeten Reagentien sowie die verarbeitete Zellaufschwemmung wurden in Eiswasser gekühlt, um temperaturabhängige Veränderungen der vom T 811 Antikörper erfaßten Oberflächenrezeptoren zu vermeiden (71).

Nach Angaben von P. Rieber (117) sollten höchstens 5×10^7 periphere Blutlymphozyten in jeweils 2 ml Aufschwemmlösung in diesem Verfahren bearbeitet werden. Es wurde also die am Ende der unter 2.3.2.2. beschriebenen Arbeitsgänge erhaltene Restmenge der Zellsuspension, wenn nötig, entsprechend verringert.

Die in sterilen Kunststoffröhrchen enthaltenen Zellsuspensionen wurden bei 1.200 UPM und 5 °C 10 Minuten lang zentrifugiert. Der Überstand wurde vorsichtig bis auf 2 ml Restmenge abgesaugt. Damit sollte der Verdünnungs-

effekt für die anschließend aufpipettierten 0,75 ml der vorgekühlten T 811 Antikörperlösung möglichst gering gehalten werden. Es folgte eine mindestens einstündige Inkubation in Eiswasser.

Mit einer sterilen Pipette wurden 10 ml Kulturmedium hinzugegeben. Diese Aufschwemmung wurde 10 Minuten lang bei 1.000 UPM und 5 °C zentrifugiert, der Überstand wurde verworfen. Der Waschvorgang wurde noch zweimal unter den gleichen Bedingungen wiederholt. Dies geschah, um die Menge noch vorhandener T 811 Antikörper möglichst gering zu halten.

Den als Sediment verbliebenen mononukleären Zellen wurden die unter 2.2.1. beschriebenen Ochsenerythrozyten im Verhältnis 20 : 1 zugegeben. Um den nötigen, engen Kontakt zwischen markierten T-Zellen und Erythrozyten herzustellen, wurden die Kunststoffröhrchen für weitere 5 Minuten bei 600 UPM und 5 °C zentrifugiert. Anschließend wurden die Röhrchen bei Dunkelheit bis zum nächsten Tag im Kühlraum der Klinik inkubiert.

Am nächsten Morgen (Tag 2) wurde das Zellhäufchen vorsichtig aufgeschüttelt. Ein Tropfen dieser Zellsuspension wurde mit einer sterilen Pasteurpipette auf einen Objektträger gebracht und mit der gleichen Menge Kristallviolett angefärbt. Nach Aufbringen eines Deckgläschens konnte der Anteil der rosettierten Zellen an der Gesamtzellmenge unter dem Mikroskop bestimmt werden. Es wurden mindestens 100 Zellen ausgezählt. T-Zellen mit wenigstens zwei an der Oberfläche gebundenen Erythrozyten wurden als Rosetten gewertet. Ab 20 % rosettierter Zellen galt dieser Arbeitsschritt als erfolgreich ausgeführt.

Alle weiterhin benötigten Reagentien und Lösungen wurden wieder auf 37 °C vorgewärmt.

Mit Kulturmedium wurde die Zellsuspension auf 10 ml aufgefüllt. Die mit Erythrozyten beladenen T-Zellen wurden über einen Dichtegradienten mittels Percoll aus der Zellaufschwemmung entfernt. Dazu wurden jeweils 5 ml Percoll in 12 ml fassende sterile Zentrifugenröhrchen abgefüllt. Nach vorsichtigem Überschichten mit 5 ml Zellsuspension wurden die Röhrchen 15 Minuten bei 1.600 UPM und 37 °C zentrifugiert. Die schweren Rosetten waren dann als Sediment abgesunken. Nach Verwerfen des Überstandes wurde der Lymphozytenring abpipettiert und in ein steriles 50 ml fassendes Falcon-Kunststoffröhrchen gegeben. Für die folgenden drei Waschvorgänge wurden jeweils 10 ml Kulturmedium zugegeben, 10 Minuten bei 1.000 UPM und 37 °C zentrifugiert und danach der Überstand abgesaugt. Von der verbliebenen Zellsuspension wurde steril ein Tropfen entnommen für die lichtmikroskopische Auszählung im Zählkammerverfahren.

Anschließend wurden die Zellsuspensionen unter Zugabe von Kulturmedium auf eine Konzentration von 1×10^6 Zellen/ml gebracht. Damit lagen am zweiten Tag T 811⁺ Zell-depletierte Populationen vor und es konnten die unter 2.3.2.3. beschriebenen Zellkulturen angesetzt werden.

2.3.3.2. Reinheitsprüfung mit Immunfluoreszenz

Zum Nachweis eventuell noch verbliebener T 811⁺-Suppressorzellen wurde die T 811⁺ Zell-depletierte Population in vier Versuchsreihen nochmals mit T 811 Antikörper versetzt. Die anschließende Zugabe von Fluoreszein-markierten anti-Maus-IgG-Antikörpern sollte Zellen mit Oberflächen-

gebundenen T 811 Antikörpern für die Auszählung unter dem Fluoreszenzmikroskop (Fa. Zeiss) sichtbar machen. Der Anteil der markierten Zellen an den insgesamt ausgezählten überschritt niemals den Höchstwert von 1 %.

Von der nach Beendigung der Suppressorzellabtrennung vorliegenden Zellsuspension wurden nach Verdünnung auf 1×10^6 Zellen/ml 100 µl steril entnommen und auf eine Kulturplatte der Fa. Bioplast (Berlin) gegeben. Anschließend wurden 20 µl der T 811 Antikörperlösung zugegeben. Nach 30-minütiger Inkubation im Eiswasserbad unter Lichtabschirmung wurde die Platte bei 1.200 UPM und 5 °C für zehn Minuten zentrifugiert. Die Überstände wurden anschließend abgeschlagen. Auf die verbliebenen Bodensätze wurden jeweils 100 µl gekühlte Waschlösung pipettiert. Es folgte ein zweiter identischer Waschvorgang, wobei jetzt auf die Zellsedimente je 20 µl des Fluoreszein-markierten Antikörpers gegeben wurden. Nach 30 Minuten Inkubation auf Eiswasser wurden die Zellansätze auf oben beschriebene Weise erneut zweimal gewaschen. Auf die Zellhäufchen kamen dann je 20 µl FCS-Azid. Anschließend wurden direkt von diesen Häufchen 8 µl abpipettiert, auf einen Objektträger gebracht und mit einem Deckgläschen abgedeckt. Zum Schutz vor Verdunstung wurden die Ränder mit Nagellack verschlossen. Unter dem Fluoreszenz-Mikroskop (Fa. Zeiss) wurden mindestens 100 Zellen gezählt und der Anteil an aufleuchtenden Zellen bestimmt. Er sollte unter 1 % liegen.

2.3.4. Datenregistrierung

Nach Ablauf der nötigen Inkubationszeit (siehe 2.3.2.2.) wurden die Mikrotiterplatten am Tag 5 bei 1.000 UPM und Zimmertemperatur 10 Minuten lang zentrifugiert. Von den Überständen wurden jeweils 100 µl abpipettiert und in

2 ml fassende Kunststoffröhrchen überführt. Diese wurden ebenso wie die Mikrotiterplatten verschlossen und bei -80°C eingefroren. So konnten nach dem Auftauen größere Meßreihen durchgeführt werden.

2.3.4.1. Bestimmung des Gesamt-IgE-in vitro

Als Meßverfahren wurde ein Enzym-Immuno-Assay angewendet, der sogenannte Phadezym-IgE-PRIST (Papierscheiben-Radio-Immuno-Sorbens-Test) der Fa. Pharmacia (Abb. 6).

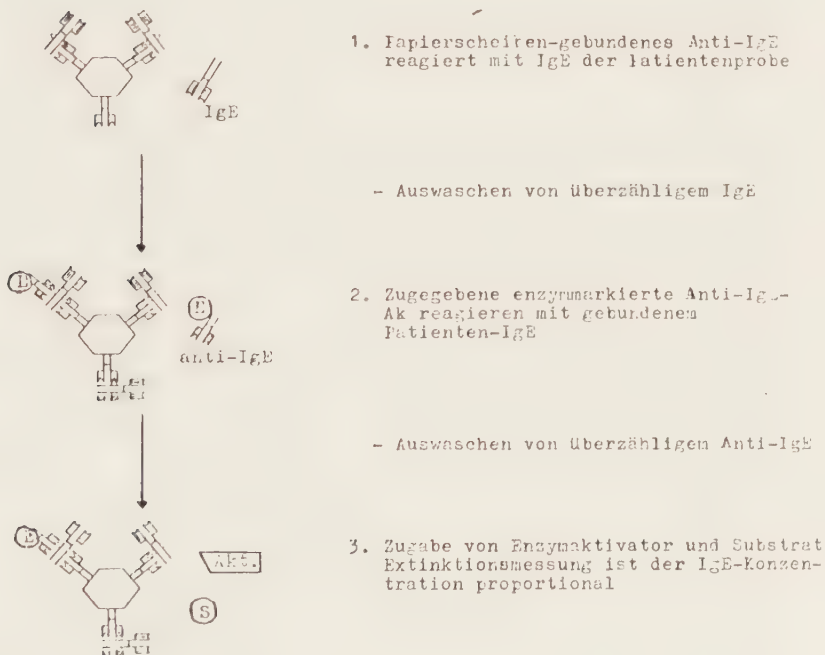


Abbildung 6. Testprinzip des Phadezym-IgE-Prüst

Das Anti-IgE ist kovalent an Papierscheiben gebunden und reagiert in der ersten Inkubation mit dem IgE der aufpipettierten Probe. Nicht gebundene Immunglobuline werden über einen Waschschrift entfernt.

Während einer zweiten Inkubation reagieren nun Anti-IgE-Antikörper, die mit dem Enzym β -Galaktosidase markiert sind, mit dem gebundenen Patienten-IgE. Überzähliges Anti-IgE wird ausgewaschen.

Durch Zugabe des reduzierenden Glutathions wird das Enzym freigesetzt und katalysiert nun die Hydrolyse des Substrats o-Nitrophenyl- β -Galaktosid zu gelbgefärbtem Anteil und farbloser Galaktose. Nach festgelegter Zeit zugegebenes Natriumkarbonat stoppt die Hydrolyse. Die bei 405 oder 420 nm registrierte Extinktion ist der vorhandenen IgE-Konzentration direkt proportional. Mittels Standard-IgE-Lösungen werden Referenzextinktionskurven erstellt, aus denen die unbekannten Patienten-IgE-Werte abgelesen werden können.

Zur Ermittlung unserer in vitro-IgE-Werte wurde nach Auftauen der Proben jeweils eines der präparierten Papierscheibchen in die Röhrchen gegeben und nach Abdecken mit Folie drei Stunden bei Raumtemperatur inkubiert. Ebenso wurde mit den vorbereiteten 100 μ l Portionen der Standardlösungen verfahren. Es folgten zwei Waschvorgänge. Nach Absaugen der Waschflüssigkeit wurden jeweils 100 μ l des Enzym-anti-IgE auf die Scheiben in allen Röhrchen pipettiert. Diese wurden wieder mit Folie verschlossen und bei Raumtemperatur bis zum nächsten Tag inkubiert. Nach drei weiteren Waschschriften kamen nun jeweils 200 μ l Entwicklerlösung auf die Scheiben, die anschließend für 60 Minuten bei 37 °C im Wasserbad belassen wurden. Nach Zugabe von jeweils 1.000 μ l Unterbrecherlösung konnten jetzt die

Extinktionen bei 420 nm gemessen werden. Durch Auftragen der für die Standards ermittelten Extinktionswerte gegen die zugehörigen IgE-Konzentrationen auf mitgeliefertes lin-log-Diagrammpapier erstellten wir eine Standardkurve. Aus dieser konnten die IgE-Werte in den Patientenproben mittels ihrer Extinktion direkt abgelesen werden. Vorversuche von H. Senner (134) hatten eine Empfindlichkeit dieses Assays bis 0,5 U/ml gezeigt.

2.3.4.2. Zellernte und Messung der Vermehrungsrate

Als Meßprinzip für die Nukleinsäuresynthese und damit für die Zellvermehrung diente die im Flüssigkeitsszintillationszähler ermittelte Thymidineinbaurate aus den zuvor abgeernteten Zellkulturen.

Die Mikrotiterkulturplatten mit dem Zellsediment wurden im Wasserbad aufgetaut. Durch den Gefriervorgang waren die Zellmembranen zerstört. Mit Hilfe eines Erntegerätes (Cell Harvester, Bimba MFG USA) wurden die unter anderem verbliebenen Zellkerne angesaugt und in einem zwischen-geschalteten Glasfilterstreifen (Fa. Schleicher und Schüll) aufgefangen. Mit Aqua dest. wurden die Plattenvertiefungen nachgespült und nochmals abgesaugt. Dies sollte die Ausbeute erhöhen und zugleich freies ^3H -Thymidin auswaschen. Die Filterstreifen wurden luftgetrocknet. Anschließend wurden die Scheibchen mit zurückgehaltenem Material herausgeschält und in Zählröhrchen gegeben. Jeweils 2 ml Szintillationsflüssigkeit wurden aufpipettiert. Aus den verschlossenen Röhrchen wurde jetzt im Flüssigkeitsszintillationszähler (Packard-Counter, Fa. Packard Instrument Company, USA) die Radionuklidaufnahme der einzelnen Proben gemessen. Von den ausgedruckten Fünfminutenwerten wurden bei den Mehrfachansätzen die Mittelwerte errechnet. Für die Versuchsauswertung wurde der anschließend ermittelte Minutenwert CPM (Counts Per Minute) herangezogen.

2.4. Grundlagen für die statische Auswertung

2.4.1. Begriffe

Aus dem Bereich der beschreibenden Statistik werden folgende Begriffe häufiger verwendet:

Arithmetisches Mittel ($\bar{x}$)

Charakteristischer Wert einer symmetrischen Glockenkurve, Gauß'schen Kurve oder Normalverteilung; dient zur Lokalisation des durchschnittlichen oder mittleren Wertes einer Meßreihe und ist die Summe aller Beobachtungen geteilt durch deren Anzahl.

Median ($\tilde{x}$)

Er gibt ebenfalls Auskunft über die Lage der Häufigkeitsverteilung. Dabei gibt er denjenigen gemessenen Wert an, der die Verteilung in zwei gleich große Hälften teilt. Bei ungerader Anzahl der Meßwerte errechnet er sich als Mittelwert aus den beiden mittleren Meßwerten. Damit bleibt der Medianwert im Gegensatz zum arithmetischen Mittel (= Mittelwert) von Extremwerten der Meßreihe vollkommen unbeeinflusst.

Standardabweichung (s_x)

Ebenfalls charakteristisch für Glockenkurven oder Normalverteilungen, zeigt die Schwankung der Einzelwerte um den Mittelwert. Sie ist praktisch gleich der Wurzel aus dem Mittelwert der quadrierten Abweichungen.

Spannweite (R)

Dient als einfaches Maß für die Streuung. R ist die Differenz zwischen dem größten und dem kleinsten Wert einer Stichprobe.

Signifikanzniveau

Der Unterschied zwischen erhaltenen Daten wird als signifikant bzw. bedeutsam bezeichnet, wenn dieser nicht als zufällig zustande gekommen gelten kann. Meist gibt man sich ein Prüfniveau (= Signifikanzniveau) vor, womit die Irrtumswahrscheinlichkeit getestet wird. Wäre diese z. B. fünf Prozent für einen festgestellten Unterschied, dann handelte es sich um einen signifikanten, auf dem 5 %-Niveau gesicherten Unterschied.

Korrelation (r)

Beschreibt die Abhängigkeit von zwei und mehr Merkmalen (Zufallsgrößen) im Hinblick auf den Grad des Zusammenhanges. Dabei liegt der Korrelationskoeffizient zwischen -1 und +1, wobei nicht korrelierte Merkmale den Koeffizienten Null haben.

Lineare Regression

Gibt Auskunft über die Art des funktionalen Zusammenhanges zweier und mehr Merkmale mit Hilfe von Regressionskoeffizient und Regressionsgeraden.

2.4.2. Verwendete Testmethoden

Da die errechneten Werte bei den IgE-Messungen und bei der Radionuklidaufnahme zwischen den einzelnen Probanden große Streuung aufwiesen, mußten Testmethoden zur Abschätzung von Verteilungsunterschieden oder von einfachen qualitativen Merkmalen angewendet werden.

Vorzeichentest

Bei diesem einfachen Test werden nur die Vorzeichen von Differenzen zwischen Beobachtungswerten bewertet. Gezählt werden die Beobachtungspaare (verbundene Stichproben) mit negativer Differenz und jene mit positiver Differenz.

In der Gegenüberstellung der Differenzhäufigkeiten zeigt sich, ob bedeutsame Unterschiede bestehen.

Bei den IgE-Bestimmungen und den CPM-Messungen dienten die Werte aus den unstimulierten Zellansätzen als Vergleichswerte zur Ermittlung der Differenzen.

U-Test von Wilcoxon, Mann und Whitney

Der Wilcoxon-Test für unverbundene Stichproben ist empfindlich gegenüber Medianunterschieden und prüft damit Verteilungsunterschiede bei den Meßwerten. Er ist ein Rangsummentest, für den kein bestimmtes Verteilungsmuster der Einzelwerte (z. B. Normalverteilung) Voraussetzung ist.

Den Meßwerten aus IgE-Bestimmung und Zellvermehrungsrate wurden Plätze in einer Rangskala zugeteilt. Deren Verteilung wurde anschließend interpretiert.

3. Ergebnisse

3.1. Eosinophile im Differentialblutbild

Bei 20 Versuchspersonen (10 Atopiker, 10 Normalpersonen) wurde aus dem gefärbten peripheren Blutausschlag der prozentuale Anteil von eosinophilen Granulozyten ermittelt. Die Tab. 8 zeigt die Ergebnisse für die einzelnen Differentialblutbilder.

Tabelle 8. Eosinophile Granulozyten im Differentialblutbild von 10 Atopikern und 10 Normalpersonen.

Atopiker	% der Eosinophilen	Normalpersonen	% der Eosinophilen
2	9	24	3
10	9	25	3
21	6	31	3
8	6	35	2
7	5	27	2
12	3	20	2
13	3	29	1
9	3	30	1
15▲	3	33	0
23▲	3	30	0
$\bar{x} = 5$		$\bar{x} = 1,7$	

▲ = Atopiker unter Hypersensibilisierungsbehandlung

In der folgenden Abbildung (Abb. 7) ist die Verteilung der Eosinophilen-Werte für die Atopikergruppe sowie für die Normalpersonen dargestellt.

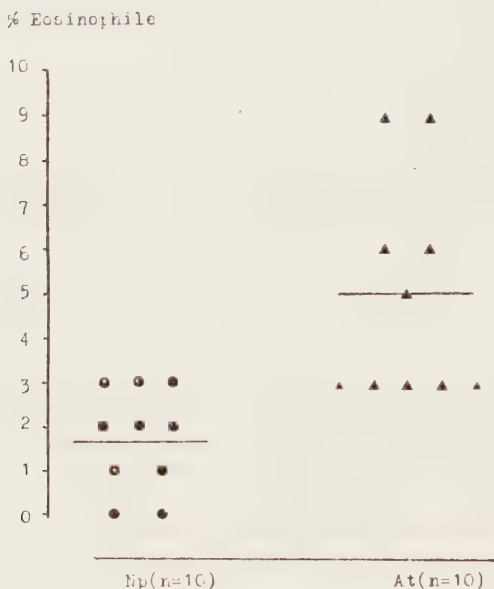


Abbildung 7. % Eosinophile im Differentialblutbild von Atopikern und Normalpersonen. Die Mittelwerte sind zusätzlich eingezeichnet.
At = Atopiker
Np = Normalpersonen

Dabei liegt der mittlere Eosinophilenanteil in der Atopikergruppe mit 5 % deutlich über dem der Normalpersonen (1,7 %). Eine gleichzeitige Auflistung (Tab. 9) der zugehörigen Plasma-IgE-Werte sowie der Krankheitsausprägung zeigt, daß in der Atopikergruppe hohes Plasma-IgE mit erhöhten Eosinophilenzahlen und meist stärkerer Atopieausprägung verknüpft war.

Tabelle 9. Eosinophile Granulozyten im Differentialblutbild und Plasma-IgE von 8 Atopikern

Atopiker	% der Eosinophilen	Plasma-IgE (U/ml)	Atopieausprägung
2	9	4242	A, E, S
10	9	1180	A, E, R
21	6	1500	E, R
8	6	160	A
12	5	110	R
18	5	140	A, E, R
19 ▲	5	72	I_W
25 ▲	3	48	A

A = Asthma

E = atopisches Ekzem

S = saisonale Allergie

R = Rhinitis allergica

S = sonstige Allergien

In der nächsten Abbildung (Abb. 8) sind die beiden Parameter Plasma-IgE und Eosinophilenanteil aus der obigen Tabelle in Form einer Punktwolke dargestellt. Dabei sind jeweils zusammengehörige Werte in ein Koordinatensystem eingetragen, dessen Achsen linear (Ordinate, Eosinophilenwerte) bzw. logarithmisch (Abszisse, IgE-Werte) unterteilt sind.

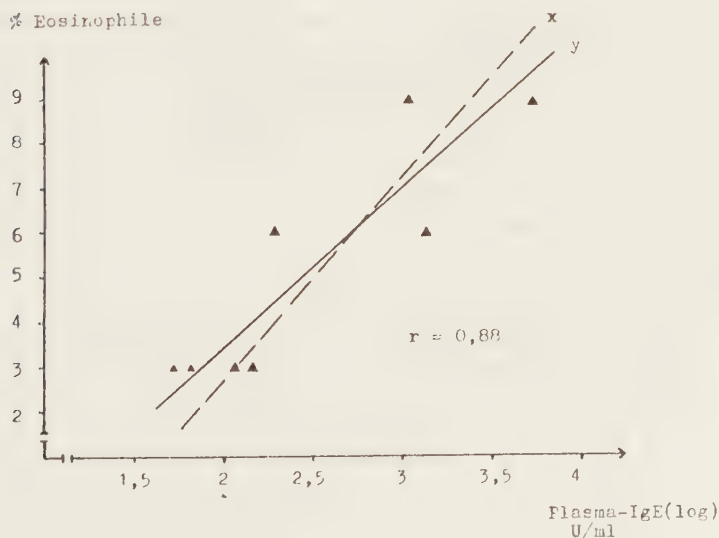


Abbildung 8. Korrelation zwischen Plasma-IgE und % der Eosinophilen bei 8 Atopikern. Zusätzlich eingetragen sind die Regressionsgeraden für y und x.

Um einen möglichen Zusammenhang zwischen Plasma-IgE-Werten und Eosinophilenzahl aufzuzeigen, wurde die Ausgleichsgerade für x auf y bestimmt. Diese Regressionsgerade gehorcht der Gleichung

$$x = 0,22 y + 1,4.$$

Der Korrelationskoeffizient r beträgt 0,88. Damit bestand eine positive Korrelation zwischen Plasma-IgE und Eosinophilenzahl bei den untersuchten Atopikern mit dem Signifikanzniveau $0,01 < p < 0,001$.

3.2. Einfluß von Monozyten auf Zellvermehrungsrate und in-vitro-IgE im LTT

3.2.1. Zellvermehrungsrate nach Monozytenabtrennung

Von 7 Versuchspersonen wurden jeweils zwei PBL-Zellkulturreihen angelegt. Eine behielt die vollständige Zellpopulation (M^+ Kultur), während von der anderen Monozyten abgetrennt waren (M^- Kultur). Für den Leerwert, für die Stimulation mit den beiden Mitogenen PWM und PHA sowie für die Stimulation mit den drei Allergenen Katzenepithel, Milbenextrakt und Gräserpollen wurden die CPM-Zählwerte aus M^+ und M^- Kultur bestimmt. Getrennt nach Stimulationsart wurden zusammengehörige Wertepaare beurteilt, wobei gelten sollte:

$CPM_{M^-} > CPM_{M^+}$	ergibt ein positives Vorzeichen
$CPM_{M^-} < CPM_{M^+}$	ergibt ein negatives Vorzeichen
$CPM_{M^-} = CPM_{M^+}$	ergibt die Differenz 0 und wird nicht berücksichtigt

CPM_M^+ ist dabei der Zählwert aus der M^+ Kultur, CPM^- der Zählwert aus der entsprechenden M^- Kultur. Mit Hilfe des Vorzeichentests sollte untersucht werden, ob sich nach Abtrennung von Monozyten die Zellvermehrungsraten in den entsprechenden Kulturansätzen in statistisch signifikanter Weise änderten.

Die Tabellen 10 und 11 zeigen die Vorzeichenverteilung im paarweisen Vergleich der Zählwerte sowie die statistische Auswertung mit dem Vorzeichentest.

Tabelle 10. Vorzeichenverteilung im Vergleich zusammengehörender Zählwerte aus M^+ und M^- Kultur. Die Spalten zeigen die Art der Stimulation.

Vp	IW	IWM	IWM'	IHA	K	H	G
7	-	-	-	+	-	+	+
12	+	+	+	+	+	+	+
20	-	-	-	+	-	-	+
21	+	-	+	+	+	+	+
25	-	+	+	f	+	+	-
33	-	-	-	f	-	+	-
36	+	+	f	+	+	-	-

Vp = Versuchspersonen (Nummern gemäß Tab. 5)
 IWM, IWM', IHA = Mitogene (IWM' = IWM + Histamin)
 K, H, G = Allergene
 IW = Leerwert
 f = fehlende Werte

Tabelle 11. Statistische Auswertung des Vergleichs der Zählwerte aus M^+ und M^- Kulturen mit dem Vorzeichentest. Die Spalten zeigen die Art der Stimulation.

Differenz	IW	IWM	IWM'	IHA	K	M	G
+	4	3	3	5	4	5	4
-	3	4	3	0	3	2	3
0	0	0	0	0	0	0	0
Signifikanz	ns	ns	ns	s*	ns	ns	ns

* $p < 0,05$

Aus Tab. 11 wird deutlich, daß die Abtrennung von Monozyten auf die Zellvermehrung in der Leerkultur sowie auf die Zellteilung nach Stimulation mit PWM und den drei Allergenen Katzenepithel, Milbenextrakt und Gräserpollen keinen besonderen Einfluß hat, da Zunahme und Abnahme etwa genauso häufig beobachtet wurden. Allerdings führte bei Stimulation mit PHA die Monozytenabtrennung dazu, daß bei deutlich mehr Versuchspersonen höhere Zellvermehrungsraten auftraten. Dieses Ergebnis ist statistisch signifikant ($p < 0,05$) und weist auf einen hemmenden Einfluß der Monozyten auf die PHA-vermittelte Zellstimulation hin.

3.2.2. In-vitro-IgE nach Monozytenabtrennung

In gleicher Weise wie die Zellvermehrungsraten sollten die in-vitro-IgE Konzentrationen aus den jeweiligen M^+ und M^- Kulturansätzen beurteilt werden. Wiederum wurden getrennt nach Stimulationsart zusammengehörige Werte verglichen. Die Vorzeichenverteilung und statistische Auswertung erfolgte wie oben.

Die Ergebnisse des Vergleichs der IgE Konzentrationen und deren Bewertung sind in Tab. 12 und 13 aufgeführt.

Tabelle 12. Vorzeichenverteilung im Vergleich zusammengehörender IgE-Werte aus M^+ und M^- Kulturen. Die Spalten zeigen die Art der Stimulation.

V_p	LW	IWM	IWM'	PHA	K	M	G
7	+	+	+	+	+	0	+
12	-	-	0	-	-	-	-
21	-	-	0	-	-	-	-
25	0	-	-	f	-	-	+
33	0	0	0	f	0	0	0
36	+	+	-	+	+	-	0

Legende siehe Tab.10

Tabelle 13. Statistische Auswertung des Vergleichs der IgE-Werte aus M^+ und M^- Kulturen mit dem Vorzeichen-test. Die Spalten zeigen die Art der Stimulation.

Differenz	IW	IWL	PWM	IRA	K	H	G
+	1	2	1	2	2	0	2
-	2	3	2	2	3	4	2
0	2	1	3	0	1	2	2
Signifikanz	1S	1S	1S	1S	1S	1S	1S

Wie zuvor bei der Beurteilung der Zellvermehrungsraten zeigte die Mehrzahl unserer Kulturansätze keine deutlich positive oder negative Beeinflussung der in-vitro-IgE-Werte durch die Monozytenabtrennung. In den Leerkulturen waren IgE-Zunahmen und Abnahmen in gleicher Zahl vertreten, während bei den Mitogenen nach PWM-Stimulation eher niedrigere IgE-Werte auftraten. Bei Stimulation mit Katzenepithel führt die Monozytenabtrennung eher zur IgE-Abnahme. Das deutliche Überwiegen der negativen Differenzen - also IgE-Abnahmen - bei Inkubation mit Hausstaubmilbenextrakt sollte trotz der fehlenden statistischen Signifikanz als auffällige Beobachtung erwähnt werden. Ausgeglichen war dagegen das Verhalten der IgE-Werte nach Stimulation mit Gräserpollen.

Nach Vorliegen dieser Ergebnisse beschlossen wir, auf eine Auftrennung in M^+ und M^- Kulturen bei den nachfolgenden Versuchen zu verzichten.

3.3. Lymphozytentransformationstest bei Atopikern und Kontrollpersonen

3.3.1. Zellvermehrungsraten in den PBL - Kulturen von Atopikern und Kontrollpersonen

3.3.1.1. Bei Stimulation mit Mitogenen

Wir untersuchten, ob sich die Zellvermehrungsraten nach Zusatz von Mitogenen (PWM, PWM kombiniert mit Histamin, PHA) aus der Atopikergruppe von denen der Kontrollpersonen unterschieden. Dabei wurden die Absolutwerte der Thymidineinbauraten (= CPM) aus den einzelnen Kulturansätzen in prozentuale Veränderungswerte (Δ CPM) umgewandelt und nach Größe geordnet in jeweils eine Rangskala für Atopiker und Kontrollpersonen aufgereiht. Zur statistischen Auswertung wurde der U-Test von Wilcoxon benützt. Ein $p \leq 0,05$ sollte als statistisch signifikant gelten.

Zur Umwandlung der absoluten Zählwerte (= CPM) in prozentuale Veränderungswerte diente folgende Formel:

$$(I) \quad \Delta \text{ CPM} = \left(\frac{\text{CPM}_{\text{ST}}}{\text{CPM}_0} - 1 \right) \cdot 100$$

Δ CPM drückt dabei die prozentuale Veränderung des jeweiligen Stimulationszählwertes aus, bezogen auf den Zählwert der nicht stimulierten Leerkultur. CPM_{ST} ist der Zählwert aus dem stimulierten Kulturansatz (also hier nach Mitogenzugabe), CPM_0 der Zählwert der Leerkultur.

In der folgenden Abbildung (Abb. 9) sind die erhaltenen Werte für CPM dargestellt.

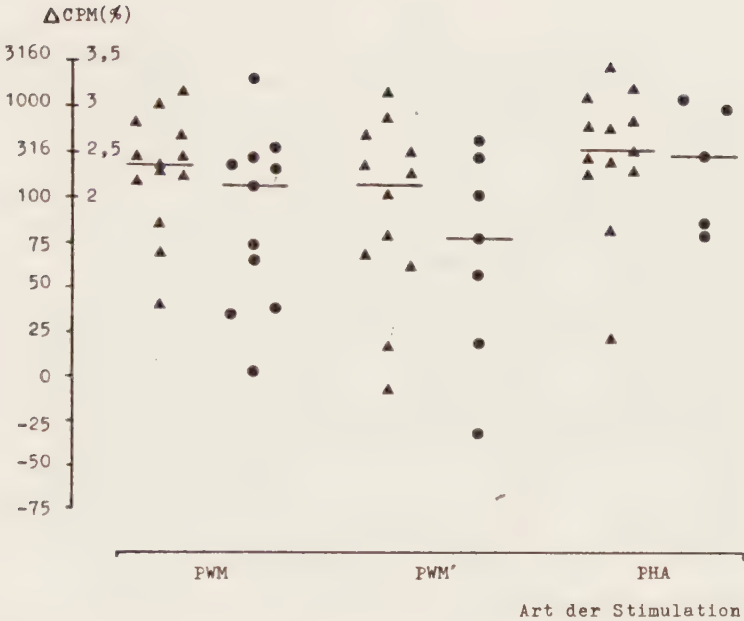


Abbildung 9. Prozentuale Veränderung der Thymidineinbaurate (ΔCPM) nach Mitogenstimulation in PBL-Kulturen von Atopikern und Normalpersonen. Die Ordinate ist zunächst linear, ab dem 100%-Wert dann logarithmisch unterteilt. Die Mediane sind eingezeichnet.

● = Normalpersonen
▲ = Atopiker

Eine Auflistung der Ergebnisse mit statistischer Auswertung zeigt die Tabelle 14.

Tabelle 14. Prozentuale Änderung der Thymidineinbauraten in PBL-Kulturen von Atopikern und Normalpersonen nach Stimulation mit Mitogenen.

		PWM		PWM'		PHA	
		At	Np	At	Np	At	Np
$\Delta CPM(\%)$	Vb min	38	4	-7	-30	22	.79
	max	1506	1946	1330	429	2880	1233
	$\bar{x}$	248	158	150	77	336	302
	Signifikanz	ns		ns		ns	

At = Atopiker

Np = Normalpersonen

Vb = Variationsbreite, mit Minimal- und Maximalwert

$\bar{x}$ = Median

Bei der Stimulation mit Mitogenen fanden sich keine statistisch signifikanten Unterschiede zwischen Atopikergruppe und Kontrollpersonen. Jedoch lagen die Mediane der Δ CPM Werte in der Atopikergruppe bei allen drei Stimulationen über den jeweiligen Medianen der Kontrollgruppe. Die höchsten Werte wurden bei Stimulation mit PHA erreicht, auch gab es hier keine negativen Werte bzw. Hemmungen der Vermehrungsrate. Der Zusatz von Histamin zur PWM Stimulation führte sowohl bei Atopikern als auch bei Kontrollpersonen zu einer Senkung der Zuwachsraten, erkennbar an den tiefer liegenden Medianen in dieser Spalte. Wie die oben angegebenen Variationsbreiten erkennen lassen, gibt es nur für die Kombination PWM und Histamin Wachstumshemmungen (maximal - 7 % in der Atopikergruppe, maximal - 30 % in der Kontrollgruppe). Wie Tabelle 14 zeigt, ist jedoch keiner dieser Unterschiede statistisch signifikant.

3.3.1.2. Bei Stimulation mit Allergenen

Wie zuvor wurden nach Stimulation mit den drei Allergenen Katzenepithel, Milbenextrakt und Gräserpollen die erhaltenen Zählwerte in prozentuale Veränderungswerte umgewandelt. Um mögliche Verteilungsunterschiede zwischen Patientengruppe und Kontrollgruppe statistisch fassen zu können, wurde wiederum der U-Test von Wilcoxon verwendet. Das oben gewählte Signifikanzniveau wurde beibehalten.

Die Abbildung 10 zeigt die erhaltenen Ergebnisse, die Tabelle 15 deren statistische Bewertung.

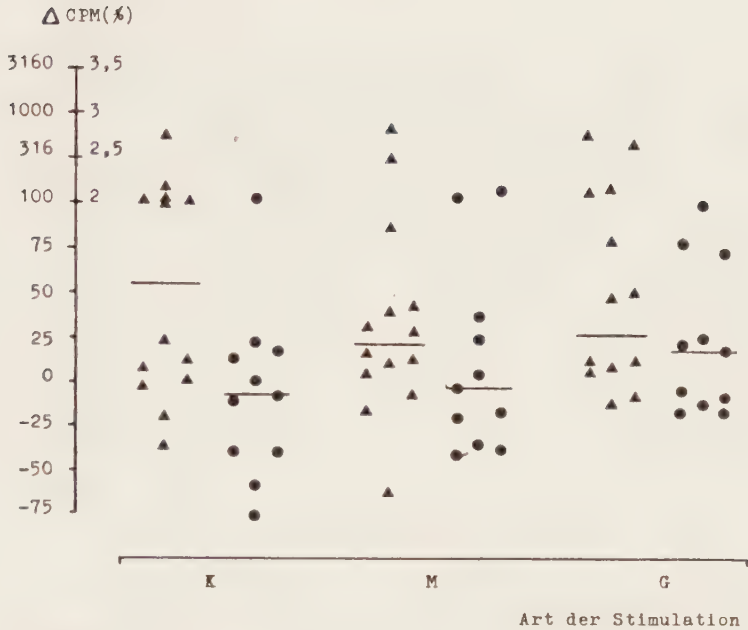


Abbildung 10. Prozentuale Veränderung der Thymidineinbaurate (Δ CPM) nach Allergenstimulation in PBL-Kulturen von Atopikern (▲) und Normalpersonen (●). Graphische Darstellung wie in Abb. 9.

Tabelle 15. Prozentuale Änderungen der Thymidineinbauraten in PBL-Kulturen von Atopikern und Normalpersonen nach Stimulation mit Allergenen.

		K		M		G	
		At	Np	At	Np	At	Np
Δ CPM(%)	Vb min	-36	-75	-16	-41	-74	-15
	max	592	133	715	154	621	112
	$\bar{x}$	55	-8	23	2	29	17
Signifikanz		s *		ns		ns	

* $p < 0,05$

Legende siehe Tab. 14

Ein statistisch signifikantes Ergebnis erbrachte der Verteilungsunterschied für die errechneten Werte aus den mit Katzenepithel stimulierten Kulturen von Atopikern und Kontrollpersonen. Zwar lagen auch für Milbenextrakt und Gräserpollen die Mediane in der Kontrollgruppe tiefer, jedoch ließen sich hier keine signifikanten Unterschiede nachweisen. Bei allen drei Allergenen gab es Kulturansätze, deren Zellwachstum gehemmt wurde. Dies trat jeweils häufiger in der Kontrollgruppe auf. Besonders auffällig war dabei die hemmende Wirkung von Katzenepithel. Insgesamt zeigen die Variationsbreiten für alle drei Allergene, daß die stimulierende Wirkung - wenn vorhanden - weit unter jener der Mitogene lag.

3.3.2. Zellvermehrungsrate in den T 8⁻ -Kulturen von Atopikern und Kontrollpersonen

3.3.2.1. Bei Stimulation mit Mitogenen

Verwendet wurden PWM, PHA und die Kombination aus PWM und Histamin. Wiederum wurden die Δ CPM Werte für die Atopiker und die Kontrollgruppe ermittelt. Auch hier sollte die Frage nach Verteilungsunterschieden mit Hilfe des Wilcoxon-Testes beantwortet werden, wobei das Signifikanzniveau nicht verändert wurde.

Die Ergebnisse sind in Abb. 11 dargestellt und in der Tab. 16 durch Variationsbreite und Median charakterisiert und statistisch ausgewertet.

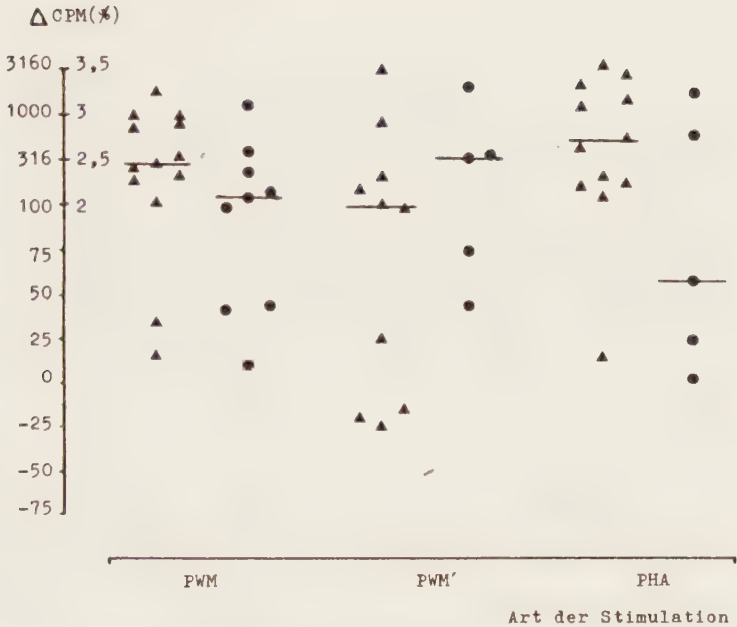


Abbildung 11. Prozentuale Veränderung der Thymidineinbaurate (ΔCPM) nach Mitogenstimulation in T8⁺-Kulturen von Atopikern (▲) und Normalpersonen (●). Graphische Darstellung wie in Abb. 9.

Tabelle 16. Prozentuale Änderungen der Thymidineinbauraten in T8⁺-Kulturen von Atopikern und Normalpersonen nach Stimulation mit Mitogenen.

		PWM		PWM'		PHA	
		At	Np	At	Np	At	Np
ΔCPM(%)	Vb min	15	11	-24	45	13	3
	max	1770	1350	3770	2200	4308	1868
	$\bar{x}$	285	125	104	336	510	58
Signifikanz		ns		ns		ns	

Legende siehe Tab.14

Wie zuvor in den PBL - Kulturen ergaben sich auch hier bei Verwendung von Mitogenen keine statistisch signifikanten Verteilungsunterschiede. Auffällig ist die deutlich stärker stimulierende Wirkung von PHA in der Atopikergruppe gegenüber der Kontrollgruppe. Hier wurden auch insgesamt die höchsten Werte erreicht. Der Zusatz von Histamin führte wiederum bei der Atopikergruppe zu einer Senkung der Zuwachsraten, jedoch nicht in der Kontrollgruppe.

3.3.2.2. Bei Stimulation mit Allergenen

Die aus den mit Katzenepithel, Milbenextrakt oder Gräserpollen inkubierten Kulturen erhaltenen Thymidineinbau-raten wurden wieder zu den jeweiligen Leerkulturen nach Formel (I) in Beziehung gesetzt. Für die statistische Auswertung der Daten wurden die oben genannten Methoden übernommen.

Die graphische Darstellung, die Auflistung wichtiger Werte sowie deren Beurteilung erfolgten wie zuvor.

Tabelle 17. Prozentuale Änderungen der Thymidineinbau-raten in T8⁺-Kulturen von Atopikern und Normalpersonen nach Stimulation mit Allergenen.

		K		M		G	
		At	Np	At	Np	At	Np
Δ CPM(%)	Vb min	-30	-40	-16	-34	-21	-21
	max	787	73	380	397	433	224
	$\bar{x}$	32	2	14	12	39	30
Signifikanz		ns		ns		ns	

Legende siehe Tab. 14

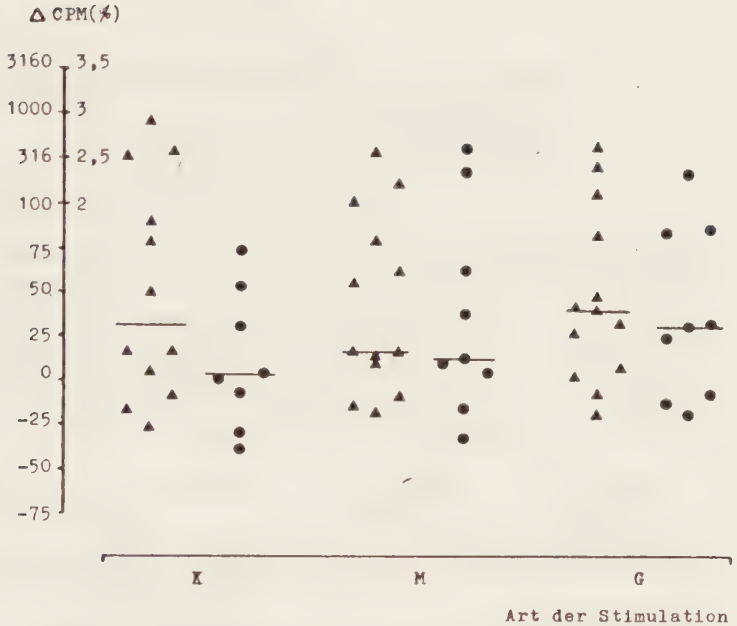


Abbildung 12. Prozentuale Veränderung der Thymidineinbaurate (ΔCPM) nach Allergenstimulation in $T8^+$ -Kulturen von Atopikern (▲) und Normalpersonen (●). Graphische Darstellung wie in Abb. 9.

Für keines der angewandten Allergene ergaben sich statistisch signifikante Unterschiede zwischen den verglichenen Gruppen. Auch hier lagen die Mediane in den Kontrollgruppen tiefer. Die hohen Werte aus der Mitogenstimulation werden nicht erreicht. Im Wachstum gehemmte Kulturen treten bei allen drei Allergenen auf, etwas häufiger bei den Kontrollpersonen.

3.3.3. Vergleich der Zellvermehrung in PBL- und T 8⁻ - Kulturen

3.3.3.1. Zellkulturen von Atopikern

Um einen möglichen Einfluß von T-Suppressorzellen auf die Zellvermehrungsrate zu erkennen, wurden jeweils zusammengehörige, d.h. bei derselben Stimulation erhaltene Δ CPM Werte aus der PBL - und T 8⁻ - Kultur der einzelnen Atopiker verglichen. Zur Beurteilung der abhängigen Meßwertpaare wurde der Vorzeichentest herangezogen. Dabei sollte gelten:

Δ CPM_{T8⁻} > Δ CPM_{PBL} ergibt ein positives Vorzeichen

Δ CPM_{T8⁻} < Δ CPM_{PBL} ergibt ein negatives Vorzeichen

Δ CPM_{T8⁻} = Δ CPM_{PBL} ergibt die Differenz 0 und wird nicht berücksichtigt

Δ CPM_{T8⁻} ist dabei der prozentuale Veränderungswert aus der Suppressorzell-depletierten Kultur (= T 8⁻ - Kultur), Δ CPM_{PBL} der entsprechende prozentuale Veränderungswert aus der PBL - Kultur.

Die folgende Tabelle zeigt die Vorzeichenverteilung im paarweisen Vergleich der Δ CPM Werte sowie deren Auswertung.

Tabelle 18. Statistische Auswertung des Vergleichs der prozentualen Veränderungen der Thymidineinbauraten bei Wertepaaren aus PBL- und T8⁻-Kulturen von Atopikern. Beurteilung mit Hilfe des Vorzeichentests. Die Spalten zeigen die Art der Stimulation.

Differenz	PWM	PWM'	PHA	K	M	G
+	5	2	5	5	7	7
-	7	8	7	7	6	6
0	0	0	0	0	0	0
Signifikanz	ns	ns	ns	ns	ns	ns

* p<0,05

Ein statistisch bedeutsamer Unterschied ergab sich bei der kombinierten Stimulation mit PWM + Histamin. Bei einem Großteil jener Atopiker, von denen PBL- und T 8⁻-Kulturen gemeinsam angesetzt waren, hatte die Abtrennung von T- Suppressorzellen bei dieser Stimulation zu einer Abnahme der Zellvermehrungsraten geführt. Für die Mitogene PWM und PHA waren die Ergebnisse ausgeglichen. Auch die drei Allergene hatten in den T 8⁻-Kulturen etwa gleich häufig zu Abnahmen und Zunahmen geführt.

3.3.3.2. Zellkulturen von Normalpersonen

Wie zuvor wurden zusammengehörige Δ CPM Werte aus der PBL- und T 8⁻-Kultur von Normalpersonen verglichen. Die Vorzeichenverteilung erfolgte wie oben. Die Ergebnisse sind in Tabelle 19 aufgelistet.

Tabelle 19. Statistische Auswertung des Vergleichs der prozentualen Veränderungen der Thymidineinbauraten bei Wertepaaren aus PBL- und T8⁻-Kulturen von Normalpersonen. Beurteilung mit Hilfe des Vorzeichen-tests. Die Spalten zeigen die Art der Stimulation.

Differenz	PWM	PWM'	PHA	K	M	G
+	3	3	1	3	4	4
-	3	1	3	3	4	4
Signifikanz	ns	ns	ns	ns	ns	ns

Statistisch signifikante Anhäufungen von Steigerungen oder Hemmungen konnten weder bei Mitogenstimulation noch bei Histamin- oder Allergenzusatz gezeigt werden. Wegen der niedrigen Zahl der Normalpersonen, bei denen Wertepaare aus PBL- und T 8⁻-Kulturen vorhanden waren, sollte jedoch das ausgeglichene Ergebnis eher als Tendenz gewertet werden.

3.4. In vitro IgE

3.4.1. Spontane, maximale und minimale IgE-Werte aus PBL-Kulturen von Atopikern und Normalpersonen

Für alle Atopiker und Normalpersonen wurden von den aus PBL-Kulturansätzen gemessenen IgE-Werten der höchste, der niedrigste sowie der jeweilige Wert aus der Leerkultur in Tabellen aufgeführt. Die Zunahme vom jeweils kleinsten IgE-Wert zum größten wurde als direkter Differenzwert (Δ IgE) angegeben, IgE-Werte kleiner als 0,5 U/ml galten dabei als 0,49 U/ml.

In der Atopikergruppe fanden sich in der Mehrzahl Kulturansätze mit mäßig erhöhten IgE-Werten. Bei fünf Atopikern waren jedoch jeweils sehr große IgE-Konzentrationen gemessen worden. Interessanterweise hatte bei den letzteren - mit Ausnahme von Patient Nr. 5 - eine akute Verschlechterung des/der Atopieleiden zum Aufsuchen der Ambulanz geführt. Dort durchgeführte Messungen von Plasma-IgE und spätere Hautteste brachten entsprechend auffällige Befunde. Im Gegensatz zu den oft erheblichen Schwankungen zwischen den einzelnen Atopikern zeigten die IgE-Werte aus jeweils denselben Kulturen gleichsinniges Verhalten. Regelmäßig niedrige IgE-Spiegel fanden sich bei den Insektengiftallergikern unter Hyposensibilisierungsbehandlung sowie bei den hyposensibilisierten Rhinitispatienten.

Bei den Normalpersonen waren die IgE-Werte aus den Leerkulturen sowie die Spannweiten zwischen IgE_{min} und IgE_{max} deutlich geringer. Häufig lagen hier die IgE-Konzentrationen unterhalb des meßbaren Bereiches, so daß der durchschnittliche Wert für Δ IgE erheblich kleiner als jener aus der Atopikergruppe war.

Tabelle 20. Spontane, maximale und minimale IgE-Werte aus PBL-Kulturen von Atopikern. Zunahme von IgE_{min} auf IgE_{max} .

At	IgE_o (U/ml)	IgE_{min} (U/ml)	IgE_{max} (U/ml)	ΔIgE (U/ml)
1▲	< 0,50	< 0,50	< 0,50	0,00
2	0,68	0,64	0,74	0,10
3◆	0,60	0,58	0,80	0,22
4◆	1,00	0,85	1,45	0,60
5	34,00	21,00	>60,00	39,00
6▲	< 0,50	< 0,50	< 0,50	0,00
7	0,57	0,57	0,58	0,01
8	1,80	< 0,50	1,80	1,31
9	1,20	1,20	1,80	0,60
10	58,00	58,00	>60,00	2,00
11	0,65	0,50	4,00	3,50
12	< 0,50	< 0,50	< 0,50	0,00
13	1,10	0,60	1,10	0,50
14▲	0,50	< 0,50	0,75	0,26
15▲	< 0,50	< 0,50	< 0,50	0,00
16	< 0,50	< 0,50	< 0,50	0,00
17	1,50	1,20	1,70	0,50
18	60,00	45,00	>60,00	15,00
19	56,00	41,00	>60,00	19,00
20	36,00	16,00	49,00	33,00
21	4,85	1,50	6,50	5,00
22	0,90	0,65	1,10	0,45
23▲	< 0,50	< 0,50	< 0,50	0,00
$\bar{x}$	11,40	8,40	13,66	5,26

▲ = Atopiker unter Hyposensibilisierungsbehandlung

◆ = Atopiker mit Phenylketonurie

Werte < 0,50 U/ml gelten als 0,49 U/ml

Beim Vergleich der Tabellen 20 und 21 zeigte sich ein deutlicher Unterschied zwischen der Atopikergruppe und den Normalpersonen nicht nur für die spontanen IgE-Werte, sondern auch für IgE_{min} und IgE_{max} . Die Bewertung dieser Unterschiede mit Hilfe des Rangsummentests erbrachte ein $p < 0,05$.

Tabelle 21. Spontane, maximale und minimale IgE-Werte aus PBL-Kulturen von Normalpersonen. Zunahme von IgE_{min} auf IgE_{max}.

Np	IgE ₀ (U/ml)	IgE _{min} (U/ml)	IgE _{max} (U/ml)	Δ IgE (U/ml)
24	< 0,50	< 0,50	0,50	0,01
25	< 0,50	< 0,50	< 0,50	0,00
26	< 0,50	< 0,50	< 0,50	0,00
27	< 0,50	< 0,50	0,54	0,05
28	0,90	0,87	1,10	0,23
29	1,20	0,80	1,20	0,40
30	< 0,50	< 0,50	< 0,50	0,00
31	0,50	< 0,50	0,60	0,11
32	< 0,50	< 0,50	< 0,50	0,00
33	< 0,50	< 0,50	< 0,50	0,00
34	< 0,50	< 0,50	0,80	0,31
35	0,70	0,53	0,80	0,27
36	0,80	0,80	1,10	0,30
37	0,50	< 0,50	0,50	0,01
$\bar{x}$	0,61	0,56	0,69	0,13

Werte < 0,50 U/ml gelten als 0,49 U/ml

Die geringe Zahl der bestimmbaren ΔIgE's in der Normalpersonengruppe ließ einen statistischen Vergleich mit den Atopikern nicht zu. Immerhin tragen die errechneten Zunahmewerte häufig den minimalen oder deutlich erhöhten IgE-Werten Rechnung.

3.4.2. Plasma-IgE, spontanes in vitro IgE (PBL-Kultur) und Krankheitsausprägung in der Atopikerguppe

In der Auflistung von Plasma-IgE und in vitro IgE mit Angabe der jeweils vorliegenden atopischen Erkrankung(en) heben sich die Insektengiftallergiker unter Hyposensibilisierungsbehandlung klar von den übrigen Atopikern ab. Das Gesamt-IgE im Plasma und in der Leerkultur lag deutlich tiefer als beim Rest der aufgeführten Versuchspersonen. Sehr hohe Plasma-IgE Werte dagegen hatten Patienten mit atopischem Ekzem,

wobei die Kombination mit anderen atopischen Erkrankungen noch zu einer Steigerung zu führen schien. Patienten, die nur Heuschnupfen oder Asthma hatten, erreichten diese Spitzenwerte nicht. Allerdings bestand auch hier die Tendenz zur Zunahme des Plasma-IgE bei Vorliegen weiterer atopischer Krankheiten.

Tabelle 22. Plasma-IgE, spontanes in vitro IgE (PBL-Kultur) und Krankheitsausprägung in der Atopikergruppe.

At	Plasma-IgE (U/ml)	log	IgE ₀ (U/ml)	log	Atopie- ausprägung
1▲	60	1,78	0,50	-0,30	G
2	4842	3,68	0,68	-0,16	E A S
3◆	300	2,47	0,60	-0,22	E S
4◆	950	2,97	1,00	0,00	E S
5	960	2,98	34,00	1,53	G R
6▲	30	1,47	0,50	-0,30	G
8	180	2,25	1,80	0,25	A
10	1180	3,07	58,00	1,76	E A R
11	144	2,15	0,65	-0,18	R
12	110	2,04	0,50	-0,30	R
13	240	2,38	1,10	0,04	R
14▲	10	1,00	0,50	-0,30	G
15▲	72	1,85	0,50	-0,30	G
16	240	2,38	0,50	-0,30	A
18	489	2,68	60,00	1,77	E A R
19	1200	3,08	56,00	1,74	R A
20	140	2,15	36,00	1,55	R A
21	1370	3,14	4,85	0,68	E R
23▲	48	1,68	0,50	-0,30	

- ▲ = Atopiker unter Hyposensibilisierungsbehandlung
- A = allergisches Asthma
- E = atopisches Ekzem
- G = Insektengiftallergie
- R = allergische Rhinitis
- S = sonstige Allergie
- ◆ = Atopiker mit Phenylketonurie

3.4.3. Korrelation zwischen Plasma-IgE und spontanem in vitro IgE (PBL - Kultur) bei Atopikern

Wir untersuchten, ob bei erhöhtem Plasma-IgE erhöhtes in vitro IgE auftrat. Um einen Zusammenhang zwischen Plasma IgE Werten und IgE aus der Leerkultur nachzuweisen, wurden jeweils zusammengehörige Werte als Koordinaten eines Punktes aufgefaßt und in Form einer Punktwolke dargestellt. Deren Gestalt ließ auf eine positive Korrelation zwischen den beiden Parametern Plasma-IgE und IgE_0 schließen.

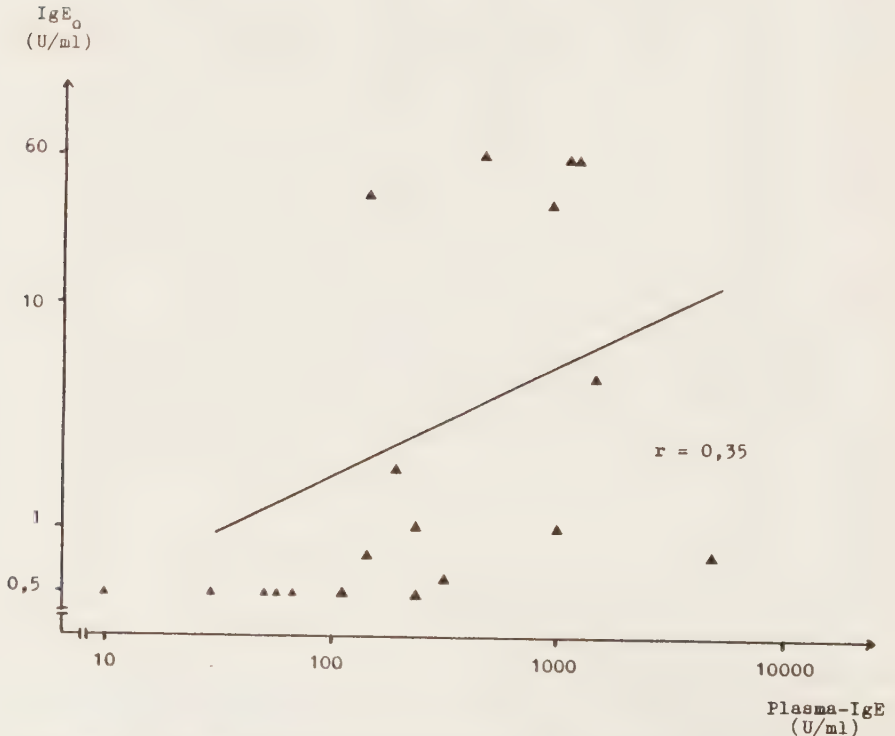


Abbildung 13. Korrelation zwischen Plasma-IgE und spontanem in vitro IgE bei 14 Atopikern mit zugehöriger Regressionsgerade für y. Zusätzlich eingetragen sind die Werte von 5 Atopikern unter Hyposensibilisierungsbehandlung (▲). Ordinate und Abszisse sind logarithmisch unterteilt.

Die eingetragene Ausgleichsgerade für y auf x gehorcht der Gleichung

$$y = 0,5 \cdot x - 0,75$$

Der Korrelationskoeffizient für die beiden Regressionsgeraden (y auf x, x auf y) beträgt 0,35. Damit besteht eine positive, jedoch nicht signifikante Korrelation zwischen Plasma-IgE und in vitro IgE bei den zu einer Gruppe zusammengefaßten Atopikern mit verschiedener Krankheitsausprägung.

3.4.4. In vitro IgE aus PBL - Kulturen von Atopikern und Normalpersonen

3.4.4.1. Einfluß von Mitogenen

Untersucht wurde der Einfluß von Mitogenen (PWM und PHA) auf die IgE-Konzentrationen in Kulturansätzen von Atopikern und Normalpersonen. Es sollte gezeigt werden, ob und wie sich die IgE Werte aus PWM oder PHA stimulierten Zellan-sätzen von den jeweiligen spontanen IgE-Konzentrationen unterschieden. Weiterhin wurden Atopikergruppe und Normalpersonen bezüglich des Effektes der Mitogenstimulation verglichen.

Für den Vergleich von jeweils zusammengehörigen IgE-Werten aus dem Mitogen stimulierten Kulturansatz ($= \text{IgE}_{\text{STIM}}$) und dem Leerwert IgE ($= \text{IgE}_0$) sollte gelten:

$\text{IgE}_{\text{STIM}} > \text{IgE}_0$	ergibt ein positives Vorzeichen
$\text{IgE}_{\text{STIM}} < \text{IgE}_0$	ergibt ein negatives Vorzeichen
$\text{IgE}_{\text{STIM}} = \text{IgE}_0$	ergibt die Differenz 0 und wird nicht berücksichtigt

Mit Hilfe des Vorzeichentests sollte nun geprüft werden, ob sich nach Zusatz von PWM oder PHA die in vitro IgE Werte in statistisch signifikanter Weise änderten.

Die Tabellen 23 bis 25 zeigen die Ergebnisse der Versuche sowie deren statistische Auswertung.

Tabelle 23, In vitro IgE aus PBL-Kulturen von Atopikern nach Zusatz von Mitogenen. Vergleich der jeweiligen IgE-Werte mit dem IgE der Leerkultur ($=\text{IgE}_0$), wobei ΔIgE Zunahme (+) oder Abnahme (-) gegenüber IgE_0 angibt.

At	IgE_0 (U/ml)	IgE_{PWM} (U/ml)	ΔIgE	IgE_{PHA} (U/ml)	ΔIgE
1▲	<0,50	<0,50	0	<0,50	0
2	0,68	0,68	0	0,67	-
3◆	0,60	0,60	0	0,58	-
4◆	1,00	1,10	+	1,00	0
5	34,00	50,00	+	21,00	-
6▲	<0,50	<0,50	0	<0,50	0
7	0,57	0,51	-	0,60	+
8	1,80	1,25	-	1,45	-
9	1,20	1,20	0	1,80	+
10	58,00	>60,00	+	59,00	+
11	0,65	0,60	-	0,60	-
12	<0,50	<0,50	0	<0,50	0
13	1,10	1,00	-	0,70	-
14▲	0,50	0,50	0	0,50	-
15▲	<0,50	<0,50	0	<0,50	0
16	<0,50	<0,50	0	f	0
17	1,50	1,20	-	1,45	-
18	60,00	>60,00	+	>60,00	+
19	56,00	49,00	-	41,00	-
20	36,00	16,00	-	19,00	-
21	4,85	3,81	-	2,52	-
22	0,90	0,90	0	1,00	+
23▲	<0,50	<0,50	0	f	0

▲ = Atopiker unter Hyposensibilisierungsbehandlung

f = fehlende Werte

Werte <0,50 U/ml gelten als 0,49 U/ml

◆ = Atopiker mit Phenylketonurie

Tabelle 24. In vitro IgE aus PBL-Kulturen von Normalpersonen nach Zusatz von Mitogenen. Vergleich der jeweiligen IgE-Werte mit dem IgE der Leerkultur (=IgE₀), wobei ΔIgE Zunahme (+) oder Abnahme (-) gegenüber IgE₀ angibt.

Np	IgE ₀ (U/ml)	IgE _{PWM} (U/ml)	ΔIgE	IgE _{PHA} (U/ml)	ΔIgE
24	< 0,50	< 0,50	0	< 0,50	0
25	< 0,50	< 0,50	0	f	0
26	< 0,50	< 0,50	0	f	0
27	< 0,50	< 0,50	0	0,54	+
28	0,90	0,88	-	f	0
29	1,20	1,00	-	f	0
30	< 0,50	< 0,50	0	f	0
31	0,50	0,60	+	< 0,50	-
32	< 0,50	< 0,50	0	< 0,50	0
33	< 0,50	< 0,50	0	f	0
34	< 0,50	< 0,50	0	< 0,50	0
35	0,70	0,80	+	0,60	-
36	0,80	0,80	0	1,10	+
37	0,50	0,50	0	f	0

Legende siehe Tab.23.

Tabelle 25. Statistische Auswertung des Vergleichs der IgE-Werte aus PBL- Leerkulturen und Mitogen-stimulierten Kulturen. Beurteilung mit Hilfe des Vorzeichentests. Getrennte Auflistung für Atopiker und Normalpersonen.

Differenz	PWM		PHA	
	At	Np	At	Np
+	4	2	5	2
-	8	2	11	2
0	5	2	1	0
Signifikanz	ns	ns	ns	ns

At = Atopiker

Np = Normalpersonen

In der Atopikergruppe hatte die Stimulation mit PWM bei fast einem Drittel der beurteilten Wertepaare keine Veränderung hervorgerufen. Bei den übrigen bewerteten Differenzen waren deutlich mehr IgE-Abnahmen im Verhältnis zur Leerkultur vorhanden. Auch bei PHA überwog der negative Einfluß. Im Verhältnis zu unseren Bezugswerten aus der Leerkultur hatte die Stimulation mit PHA allerdings fast immer zu einer Veränderung geführt. Trotz der erkennbaren Tendenz zur Hemmung blieb dieser Einfluß von PHA und PWM nicht signifikant.

Aufgrund der zum Teil unterhalb des Meßbereiches liegenden IgE-Werte in den Kulturen der Normalpersonen blieb nur eine relative kleine Zahl von bewertbaren Meßwertpaaren. Für PWM und PHA erhielten wir ebenso viele Zunahmen wie Abnahmen der IgE-Konzentrationen im Bezug zur Leerkultur.

Insgesamt konnte weder für PWM noch für PHA ein signifikanter Einfluß nachgewiesen werden, wobei sich allerdings für beide Mitogene die Tendenz zur Hemmung in der Atopikergruppe vom ausgeglichenen Verhalten bei den Normalpersonen abhebt.

3.4.4.2. Einfluß von Allergenen

Wie zuvor wollten wir untersuchen, ob die Stimulation mit den Allergenen Katzenepithel, Hausstaubmilbe und Gräserpollen Veränderungen der IgE-Konzentrationen im Verhältnis zum Vergleichswert aus der jeweiligen Leerkultur hervorgerufen würden.

Wiederum wurden Wertepaare gebildet und entsprechend der Differenz Vorzeichen verteilt. Die Häufigkeiten von positiven und negativen Differenzen wurden auf bedeutsame Unterschiede hin im Vorzeichentest geprüft.

Tabelle 26. In vitro IgE aus PBL-Kulturen von Atopikern nach Zusatz von Allergenen. Vergleich der jeweiligen IgE-Werte mit dem IgE der Leerkultur (IgE_0), wobei ΔIgE Zunahme (+) oder Abnahme (-) gegenüber IgE_0 angibt.

At	IgE_0 (U/ml)	IgE_K (U/ml)	ΔIgE	IgE_M (U/ml)	ΔIgE	IgE_G (U/ml)	ΔIgE
1▲	<0,50	<0,50	0	<0,50	0	<0,50	0
2	0,68	0,66	-	0,74	+	0,64	-
3▲	0,60	0,80	+	0,80	+	0,80	+
4▲	1,00	1,45	+	0,85	-	0,85	-
5	34,00	52,00	+	60,00	+	51,00	+
6▲	<0,50	<0,50	0	<0,50	0	<0,50	0
7	0,57	0,80	+	0,85	+	0,76	+
8	1,80	1,25	-	0,80	-	0,50	-
9	1,20	1,20	0	1,50	+	1,50	+
10	58,00	58,00	0	49,00	-	60,00	+
11	0,65	0,50	-	0,50	-	4,00	+
12	<0,50	<0,50	0	<0,50	0	<0,50	0
13	1,10	0,60	-	0,70	-	0,70	-
14▲	0,50	0,60	+	0,50	0	0,50	0
15▲	<0,50	<0,50	0	<0,50	0	<0,50	0
16	<0,50	<0,50	0	<0,50	0	<0,50	0
17	1,50	1,70	+	1,50	0	1,40	-
18	60,00	55,00	-	45,00	-	55,00	-
19	56,00	>60,00	+	55,00	-	>60,00	+
20	36,00	16,00	-	24,00	-	49,00	+
21	4,85	3,50	-	6,50	+	2,00	-
22	0,90	1,10	+	0,80	-	1,00	+
23▲	<0,50	<0,50	0	<0,50	0	<0,50	0

IgE_K , IgE_M , IgE_G = IgE-Werte nach Zusatz von Katzenepithel, Milbenextrakt, Gräserpollen.
sonstige Bezeichnungen wie Tab. 23.

Tabelle 27. In vitro IgE aus PBL-Kulturen von Normalpersonen nach Zusatz von Allergenen. Vergleich der jeweiligen IgE-Werte mit dem IgE der Leerkultur (=IgE₀), wobei ΔIgE Zunahme (+) oder Abnahme (-) gegenüber IgE₀ angibt.

Np	IgE ₀ (U/ml)	IgE _K (U/ml)	ΔIgE	IgE _M (U/ml)	ΔIgE	IgE _G (U/ml)	ΔIgE
24	<0,50	0,50	+	0,50	+	<0,50	0
25	<0,50	<0,50	0	<0,50	0	<0,50	0
26	<0,50	<0,50	0	<0,50	0	<0,50	0
27	<0,50	<0,50	0	<0,50	0	0,50	+
28	0,90	0,87	-	0,90	0	1,10	+
29	1,20	1,10	-	0,90	-	0,80	-
30	<0,50	<0,50	0	<0,50	0	<0,50	0
31	0,50	0,60	+	0,60	+	0,50	0
32	<0,50	<0,50	0	<0,50	0	<0,50	0
33	<0,50	<0,50	0	<0,50	0	<0,50	0
34	<0,50	<0,50	0	<0,50	0	<0,50	0
35	0,70	0,66	-	0,80	+	0,53	-
36	0,80	0,80	0	0,82	+	0,80	0
37	0,50	<0,50	-	<0,50	-	<0,50	-

Legende siehe Tab.26.

Tabelle 28. Statistische Auswertung des Vergleichs der IgE-Werte aus PBL- Leerkulturen und Allergen-stimulierten Kulturen. Beurteilung mit Hilfe des Vorzeichentests. Getrennte Auflistung für Atopiker und Normalpersonen.

Differenz	K		M		G	
	At	Np	At	Np	At	Np
+	8	2	6	4	9	2
-	7	4	9	2	7	3
0	2	1	2	1	1	2
Signifikanz	ns	ns	ns	ns	ns	ns

Auch bei Stimulation mit Allergenen erhielten wir erhebliche Schwankungen der IgE-Werte zwischen den einzelnen Atopikern, jedoch blieb das Bild innerhalb derselben Kulturansätze ausgeglichen.

Auf Zusatz von Katzenepithel hatten in der Atopikergruppe acht Kulturen mit Steigerung der IgE-Sekretion und sieben mit IgE-Abnahme reagiert, während bei zwei Atopikern keine Veränderung stattfand. Bei Provokation mit Milbenextrakt überwog die negative Beeinflussung (sechs Zunahmen gegenüber neun Abnahmen). Gräserpollen führten etwas häufiger zu IgE-Steigerungen.

Nur wenige Atopiker hatten auf alle drei Allergene in gleicher Weise reagiert (Nr. 3, Nr. 5 und Nr. 7 nur Zunahmen; Nr. 8, Nr. 13 und Nr. 18 nur Abnahmen). Wie schon bei der Stimulation mit Mitogenen lagen die Werte aus den Kulturen der Insektengiftallergiker unter Hyposensibilisierungsbehandlung sowie diejenigen des hyposensibilisierten Rhinitispatienten unter den durchschnittlich beobachteten IgE-Konzentrationen.

Bei der Mehrzahl der Normalpersonen konnten wiederum nur minimale IgE-Werte nachgewiesen werden. Soweit Vorzeichen für Paardifferenzen vergeben werden konnten, führte dies zu einem in etwa ausgeglichenen Bild.

Insgesamt waren weder bei den Atopikern noch bei den Normalpersonen statistisch signifikante Steigerungen oder Hemmungen nach Allergenzugabe aufgetreten.

3.4.4.3. Einfluß von Histamin sowie PWM und Histamin

Um eine mögliche Beeinflussung der IgE-Werte in Leerkulturen und PWM-stimulierten Kulturen durch den Zusatz von Histamin zu erkennen, wurden diese mit entsprechenden Referenzwerten aus der Leerkultur verglichen und im Vorzeichen-test beurteilt.

Im direkten Vergleich der IgE-Werte aus den PWM stimulierten Kulturen mit jenen aus den kombiniert (PWM + Histamin) stimulierten Zellansätzen wurden die Vorzeichen folgendermaßen vergeben:

$IgE_{PWM + H} > IgE_{PWM}$	ergibt ein positives Vorzeichen
$IgE_{PWM + H} < IgE_{PWM}$	ergibt ein negatives Vorzeichen
$IgE_{PWM + H} = IgE_{PWM}$	ergibt die Differenz 0 und wird nicht berücksichtigt

Die Ergebnisse der Versuche sowie deren Auswertung sind in den folgenden Tabellen angegeben.

Tabelle 29. In vitro IgE aus PBL-Kulturen von Atopikern nach Zusatz von Histamin bzw. PWM und Histamin. Vergleich der jeweiligen IgE-Werte mit dem IgE der Leerkultur (=IgE₀), wobei ΔIgE Zunahme (+) oder Abnahme (-) gegenüber IgE₀ angibt.

At	IgE ₀ (U/ml)	IgE _H (U/ml)	ΔIgE	IgE _{PWM+H} (U/ml)	ΔIgE
1▲	< 0,50	< 0,50	0	< 0,50	0
2	0,68	0,52	-	0,66	+
3▲	0,60	0,85	+	0,75	+
4▲	1,00	0,85	-	1,10	+
5	34,00	42,00	+	58,00	+
6▲	< 0,50	< 0,50	0	< 0,50	0
7	0,57	0,70	+	0,72	+
8	1,80	0,50	-	0,50	-
9	1,20	1,60	+	1,00	-
10	58,00	f	0	59,00	+
11	0,65	< 0,50	-	< 0,50	-
12	< 0,50	< 0,50	0	< 0,50	0
13	1,10	f	0	0,70	-
14▲	0,50	0,55	+	0,75	+
15▲	< 0,50	< 0,50	0	< 0,50	0
17	1,50	f	0	1,30	-
18	60,00	f	0	> 60,00	+
19	56,00	50,00	-	58,00	+
20	36,00	f	0	18,00	-
21	4,85	2,00	-	1,50	-
22	0,90	1,00	+	0,65	-

IgE_H, IgE_{PWM+H} = IgE-Werte nach Zusatz von Histamin, PWM und Histamin.
sonstige Bezeichnungen wie Tab. 23.

Tabelle 30. In vitro IgE aus PBL-Kulturen von Normalpersonen nach Zusatz von Histamin bzw. PWM und Histamin. Vergleich der jeweiligen IgE-Werte mit dem IgE der Leerkultur ($=\text{IgE}_0$), wobei ΔIgE Zunahme (+) oder Abnahme (-) gegenüber IgE_0 angibt.

Np	IgE_0 (U/ml)	IgE_H (U/ml)	ΔIgE	$\text{IgE}_{\text{PWM+H}}$ (U/ml)	ΔIgE
24	< 0,50	0,50	+	< 0,50	0
25	< 0,50	f	0	< 0,50	0
27	< 0,50	0,52	+	< 0,50	0
29	1,20	1,10	-	0,80	-
31	0,50	0,50	0	0,50	0
32	< 0,50	< 0,50	0	< 0,50	0
33	< 0,50	f	0	< 0,50	0
34	< 0,50	0,90	+	0,80	+
35	0,70	0,66	-	0,67	-
36	0,80	0,80	0	0,82	+
37	0,50	0,50	0	< 0,50	-

Legende siehe Tab.23.

Tabelle 31. Statistische Auswertung des Vergleichs der IgE-Werte aus PBL- Leerkulturen und Histamin-stimulierten Kulturen bzw. kombiniert (PWM+Histamin) stimulierten Kulturen. Zusätzlich Beurteilung des Vergleichs ($=\Delta\text{IgE}_{\text{PWM/PWM+H}}$) der IgE-Werte aus PWM und PWM+Histamin stimulierten PBL- Kulturen. Anwendung des Vorzeichentests und Auflistung wie zuvor.

Differenz	H		PWM+H		PWM/PWM+H	
	At	Np	At	Np	At	Np
+	6	3	9	2	7	2
-	6	2	8	3	8	4
0	0	3	0	1	1	0
Signifikanz	ns	ns	ns	ns	ns	ns

Auf die Zugabe von Histamin zum Zellansatz hatten in der Atopikergruppe ebenso viele Kulturen mit einem IgE-Abfall wie mit einer IgE-Zunahme reagiert. Wurde die Stimulation durch PWM mit Histamin kombiniert, so erhielten wir ebenfalls eine ausgeglichene Verteilung von Zunahmen und Abnahmen der IgE-Konzentration. Der in 3.4.4.1. aufgefallene hemmende Einfluß von PWM schien jetzt abgenommen zu haben. Im direkten Vergleich der IgE-Werte aus PWM und kombiniert (PWM + Histamin) stimulierten Kulturen war allerdings keine eindeutige Tendenz zu Hemmung oder Steigerung durch Histamin erkennbar.

Bei den Normalpersonen schien der Zusatz von Histamin häufiger zu einer Abnahme der IgE-Spiegel im Verhältnis zur alleinigen PWM-Stimulation zu führen.

Sowohl bei Atopikern als auch bei Normalpersonen ergaben sich jedoch keine statistisch bedeutsamen Unterschiede.

3.4.5. Spontane, maximale und minimale IgE-Werte aus $T 8^+$ -Kulturen von Atopikern und Normalpersonen

Wie zuvor für die PBL-Kulturen wurden aus den Suppressorzell-depletierten Kulturen für jede Versuchsperson der größte, kleinste und der Leerkultur-IgE-Wert angegeben. Der Differenzwert zwischen IgE_{min} und IgE_{max} wurde wiederum als ΔIgE bezeichnet.

Im Vergleich zu den Normalpersonen lagen die IgE-Werte aus Kulturen der Atopiker deutlich höher. Auch hier bestätigte der Rangsummentest nach Wilcoxon einen signifikanten Unterschied ($p < 0,05$). Wiederum fielen fünf Patienten durch ihre extrem hohen IgE-Konzentrationen auf. Die schon zuvor beobachteten Schwankungen der IgE-Werte zwischen den einzelnen Atopikern waren auch hier ausgeprägter als in der Vergleichsgruppe.

Bei den Normalpersonen lagen mehr Werte innerhalb des meßbaren Bereiches. Somit konnten fast alle Δ IgE's berechnet werden. Bis auf einen Wert lagen diese durchwegs unter 100 %.

Tabelle 32. Spontane, maximale und minimale IgE-Werte aus T8⁻-Kulturen von Atopikern.
 IgE_{min} auf IgE_{max} Zunahme von

At	IgE_o (U/ml)	IgE_{min} (U/ml)	IgE_{max} (U/ml)	ΔIgE (U/ml)
1 Δ	0,70	< 0,50	0,90	0,41
2	0,60	0,60	0,70	0,10
3 Δ	1,15	0,80	1,20	0,40
4 Δ	0,95	0,75	1,20	0,45
5	1,50	1,20	1,80	0,60
6 Δ	< 0,50	< 0,50	< 0,50	0,00
7	0,85	0,82	1,36	0,54
9	1,20	1,20	28,00	26,80
10	> 60,00	> 60,00	> 60,00	0,00
11	0,55	0,50	5,00	4,50
12	1,30	0,50	1,30	0,80
13	1,15	0,70	1,30	0,60
14 Δ	0,50	< 0,50	0,70	0,21
15 Δ	< 0,50	< 0,50	< 0,50	0,00
16	4,00	4,00	5,50	1,50
19	> 60,00	58,00	> 60,00	2,00
20	25,00	20,00	58,00	38,00
21	5,00	2,40	7,20	4,80
22	1,20	0,65	1,20	0,55
23 Δ	0,70	< 0,50	0,80	0,31
$\bar{x}$	8,36	4,72	11,86	7,14

Legende siehe Tab. 23.

Die durchschnittliche Spannweite von minimalem zu maximalem IgE war bei den Normalpersonen geringer als in der Atopikergruppe. Extreme Zunahmen von IgE_{min} auf IgE_{max} trugen nur in letzterer auf.

Tabelle 33. Spontane, maximale und minimale IgE-Werte aus T8⁺-Kulturen von Normalpersonen. Zunahme von IgE_{min} auf IgE_{max}.

Np	IgE _o (U/ml)	IgE _{min} (U/ml)	IgE _{max} (U/ml)	Δ IgE (U/ml)
24	< 0,50	< 0,50	0,60	0,11
26	< 0,50	< 0,50	< 0,50	0,00
27	0,50	< 0,50	0,52	0,03
28	< 0,50	< 0,50	< 0,50	0,00
29	1,15	0,85	1,40	0,55
30	0,83	0,83	1,10	0,27
31	0,70	0,50	0,70	0,20
35	0,67	0,64	1,00	0,26
36	0,95	0,85	1,25	0,40
37	0,55	0,50	1,80	1,30
$\bar{x}$	0,68	0,61	0,93	0,32

Legende siehe Tab. 23.

3.4.6. In vitro IgE aus T 8⁺ - Kulturen von Atopikern und Normalpersonen

3.4.6.1. Einfluß von Mitogenen

Um zu erkennen, welchen Einfluß die Mitogene PWM und PHA auf die IgE-Konzentrationen in Zellkulturen ohne T-Suppressorzellen hatten, wurden die IgE-Werte aus den Mitogen stimulierten Zellansätzen mit denjenigen aus den zugehörigen Leerkulturen verglichen.

Wiederum wurden im paarweisen Vergleich von Meßwerten Vorzeichen verteilt und mit Hilfe des Vorzeichentests beurteilt.

Die folgenden Tabellen zeigen die Ergebnisse und deren Auswertung.

Tabelle 34. In vitro IgE aus T8⁺ - Kulturen von Atopikern nach Zusatz von Mitogenen. Vergleich der jeweiligen IgE-Werte mit dem IgE der Leerkultur (=IgE₀), wobei ΔIgE Zunahme (+) oder Abnahme (-) gegenüber IgE₀ angibt.

At	IgE ₀ (U/ml)	IgE _{PWM} (U/ml)	Δ IgE	IgE _{FHA} (U/ml)	Δ IgE
1▲	0,70	0,90	+	0,70	0
2	0,60	0,64	+	0,64	+
3◆	1,15	1,00	-	1,00	-
4◆	0,95	1,20	+	1,00	+
5	1,50	1,80	+	1,80	+
6	< 0,50	< 0,50	0	< 0,50	0
7	0,85	1,36	+	0,94	+
9	1,20	1,20	0	1,80	+
10	> 60,00	> 60,00	0	> 60,00	0
11	0,55	0,60	+	f	0
12	1,30	0,55	-	0,60	-
13	1,15	0,73	-	1,15	0
14▲	0,50	< 0,50	-	0,50	0
15▲	< 0,50	< 0,50	0	< 0,50	0
16	4,00	5,00	+	f	0
19	> 60,00	> 60,00	0	> 60,00	0
20	25,00	58,00	+	42,00	+
21	5,00	5,80	+	4,80	-
22	1,20	0,90	-	0,95	-
23▲	0,70	0,80	+	f	0

Legende siehe Tab. 23.

Tabelle 35. In vitro IgE aus T8⁺ - Kulturen von Normalpersonen nach Zusatz von Mitogenen. Vergleich der jeweiligen IgE-Werte mit dem IgE der Leerkultur (=IgE₀), wobei ΔIgE Zunahme (+) oder Abnahme (-) gegenüber IgE₀ angibt.

Np	IgE ₀ (U/ml)	IgE _{PWM} (U/ml)	ΔIgE	IgE _{PHA} (U/ml)	ΔIgE
24	< 0,50	0,50	+	0,60	+
26	< 0,50	< 0,50	0	f	0
27	0,50	0,51	+	0,51	+
28	< 0,50	< 0,50	0	f	0
29	1,15	0,85	-	f	0
30	0,83	1,10	+	f	0
31	0,70	0,50	-	0,50	-
35	0,67	0,75	+	0,64	-
36	0,95	1,00	+	1,00	+
37	0,55	0,55	0	f	0

Legende siehe Tab.23.

Tabelle 36. Statistische Auswertung des Vergleichs der IgE-Werte aus T8⁺- Leerkulturen und Mitogen-stimulierten Kulturen. Beurteilung mit Hilfe des Vorzeichentests. Getrennte Auflistung für Atopiker und Normalpersonen.

Differenz	PWM		PHA	
	At	Np	At	Np
+	10	5	6	3
-	5	2	4	2
0	1	1	2	0
Signifikanz	ns	ns	ns	ns

Bei einem Großteil der Atopiker hatte die Stimulation mit PWM zur IgE-Steigerung geführt. Bei PHA überwog die Anzahl der positiven Differenzen nur leicht. Damit wurde für PWM - in geringerem Maße auch für PHA - die Tendenz zur Steigerung erkennbar.

Bei den Normalpersonen erhielten wir für PWM etwa doppelt so häufig Zunahmen wie Abnahmen, bei PHA überwogen die Zunahmen nur wenig. Diese Steigerungen waren jedoch nicht signifikant.

3.4.6.2. Einfluß von Allergenen

Auch für die mit Allergenen stimulierten Zellansätze aus T_8^- - Kulturen bestimmten wir die Vorzeichen im Vergleich zur jeweiligen Leerkultur. Die Auswertung der erhaltenen Vorzeichenhäufigkeiten wurde bei Atopikern und Normalpersonen wieder mit Hilfe des Vorzeichentests durchgeführt.

Tabelle 37. In vitro IgE aus T_8^- - Kulturen von Atopikern nach Zusatz von Allergenen. Vergleich der jeweiligen IgE-Werte mit dem IgE der Leerkultur ($=IgE_0$), wobei ΔIgE Zunahme (+) oder Abnahme (-) gegenüber IgE_0 angibt.

At	IgE_0 (U/ml)	IgE_K (U/ml)	ΔIgE	IgE_M (U/ml)	ΔIgE	IgE_G (U/ml)	ΔIgE
1▲	0,70	0,65	-	0,50	-	0,55	-
2	0,60	0,60	0	0,62	+	0,60	0
3●	1,15	1,10	-	1,20	+	0,80	-
4●	0,95	0,80	-	0,80	-	0,75	-
5	1,50	1,20	-	1,20	-	1,20	-
6	<0,50	<0,50	0	<0,50	0	<0,50	0
7	0,85	0,85	0	0,84	-	0,82	-
9	1,20	15,00	+	28,00	+	16,00	+
10	>60,00	>60,00	+	>60,00	+	>60,00	0
11	0,55	0,50	-	0,50	-	5,00	+
12	1,30	0,50	-	<0,50	-	0,60	-
13	1,15	1,30	+	0,70	-	0,70	-
14▲	0,50	0,50	0	0,50	0	0,50	0
15▲	<0,50	<0,50	0	<0,50	0	<0,50	0
16	4,00	5,50	+	4,70	+	f	0
19	>60,00	58,00	-	>60,00	0	>60,00	0
20	25,00	46,00	+	30,00	+	24,00	-
21	5,00	7,20	+	4,80	-	5,20	+
22	1,20	0,65	-	1,10	-	0,75	-
23▲	0,70	0,70	0	<0,50	-	<0,50	-

Legende siehe Tab.26.

Tabelle 38. In vitro IgE aus T8⁻ - Kulturen von Normalpersonen nach Zusatz von Allergenen. Vergleich der jeweiligen IgE-Werte mit dem IgE der Leerkultur (=IgE₀), wobei ΔIgE Zunahme (+) oder Abnahme (-) gegenüber IgE₀ angibt.

Np	IgE ₀ (U/ml)	IgE _{Kult} (U/ml)	ΔIgE	IgE _M (U/ml)	ΔIgE	IgE _G (U/ml)	ΔIgE
24	<0,50	0,60	+	0,60	+	0,50	+
26	<0,50	<0,50	0	<0,50	0	<0,50	0
27	0,50	<0,50	-	<0,50	-	<0,50	-
28	<0,50	<0,50	0	<0,50	0	<0,50	0
29	1,15	0,90	-	1,10	-	1,10	-
30	0,83	1,10	+	1,10	+	1,10	+
31	0,70	0,60	-	0,60	-	0,60	-
35	0,67	1,00	+	0,70	+	0,70	+
36	0,95	0,90	-	1,25	+	1,00	+
37	0,55	0,55	0	0,52	-	0,50	-

Legende siehe Tab.26.

Tabelle 39. Statistische Auswertung des Vergleichs der IgE-Werte aus T8⁻ - Leerkulturen und Allergen-stimulierten Kulturen. Beurteilung mit Hilfe des Vorzeichentests. Getrennte Auflistung für Atopiker und Normalpersonen.

Differenz	K		M		G	
	At	Np	At	Np	At	Np
+	6	3	6	4	3	4
-	8	4	10	4	10	4
0	4	1	1	0	2	0
Signifikanz	ns	ns	ns	ns	ns	ns

* p<0,05

Wieder fielen in der Atopikergruppe die großen Schwankungen zwischen den einzelnen Versuchspersonen auf. Bei einem Patienten hatten alle drei Allergene zu erheblichen IgE-Steigerungen geführt. Bei fünf Atopikern (Nr. 1, Nr. 4,

Nr. 5, Nr. 12, Nr. 22) waren nur IgE-Abnahmen aufgetreten. Bei Katzenepithel, Milbenextrakt und Gräserpollen überwogen insgesamt die Abnahmen. Dabei hatten die viel häufigeren IgE-Hemmungen nach Gräserpollenstimulation ein Signifikanzniveau von 5 % ergeben ($p < 0,05$).

Bei den meisten Normalpersonen waren wiederum nur minimale oder nur leicht erhöhte IgE-Werte gemessen worden. Es lagen für alle drei Allergene etwa ebenso viele IgE-Steigerungen wie-Hemmungen vor.

Damit unterscheidet sich die ausgewogene Reaktion auf Allergenstimulation bei den Normalpersonen von dem hemmenden Einfluß von Katzenepithel, Milbenextrakt und insbesondere Gräserpollen in der Atopikergruppe.

3.4.6.3. Einfluß von Histamin sowie PWM und Histamin

Wie zuvor unter Punkt 3.4.4.3. sollte der Einfluß von Histamin untersucht werden. Als Vergleich für die IgE-Werte aus Histamin stimulierten und kombiniert (PWM + Histamin) stimulierten Kulturen dienten die Referenzwerte aus den entsprechenden Leerkulturen.

Zusätzlich wurden PWM und PWM + Histamin stimulierte Kulturen direkt bezüglich ihrer IgE-Konzentrationen verglichen.

Die Vorzeichenverteilung und die Auswertung erfolgten nach den oben beschriebenen Kriterien.

Tabelle 40. In vitro IgE aus T8⁻- Kulturen von Atopikern nach Zusatz von Histamin bzw. PWM und Histamin. Vergleich der jeweiligen IgE-Werte mit dem IgE der Leerkultur (=IgE₀), wobei Δ IgE Zunahme (+) oder Abnahme (-) gegenüber IgE₀ angibt.

At	IgE ₀ (U/ml)	IgE _H (U/ml)	Δ IgE	IgE _{PWM+H} (U/ml)	Δ IgE
1 _A	0,70	0,65	-	0,50	-
2	0,60	0,70	+	0,66	+
3 _A	1,15	0,80	-	0,80	-
4 _A	0,95	0,80	-	0,80	-
5	1,50	1,40	-	1,70	+
6	< 0,50	< 0,50	0	< 0,50	0
7	0,85	f	0	0,88	+
9	1,20	1,80	+	13,00	+
10	> 60,00	f	0	> 60,00	0
11	0,55	< 0,50	-	0,50	-
12	1,30	< 0,50	-	0,50	-
13	1,15	f	0	1,10	-
14 _A	0,50	0,70	+	0,50	-
15 _A	< 0,50	f	0	< 0,50	0
16	4,00	f	0	f	0
19	> 60,00	f	0	> 60,00	0
20	25,00	f	0	20,00	-
21	5,00	2,40	-	3,20	-

Legende siehe Tab.29.

Tabelle 41. In vitro IgE aus T8⁻- Kulturen von Normalpersonen nach Zusatz von Histamin bzw. PWM und Histamin. Vergleich der jeweiligen IgE-Werte mit dem IgE der Leerkultur (=IgE₀), wobei Δ IgE Zunahme (+) oder Abnahme (-) gegenüber IgE₀ angibt.

Np	IgE ₀ (U/ml)	IgE _H (U/ml)	Δ IgE	IgE _{PWM+H} (U/ml)	Δ IgE
24	< 0,50	0,80	+	0,60	+
27	0,50	< 0,50	-	0,51	+
29	1,15	1,40	+	1,20	+
31	0,70	f	0	0,65	-
35	0,67	0,70	+	0,75	+
36	0,95	f	0	0,85	-
37	0,55	1,80	+	0,50	-

Legende siehe Tab.29.

Tabelle 42. Statistische Auswertung des Vergleichs der IgE-Werte aus T8⁻-Leerkulturen und Histamin-stimulierten Kulturen bzw. kombiniert (PWM+Histamin) stimulierten Kulturen. Zusätzlich Beurteilung des Vergleichs ($=\Delta \text{IgE}_{\text{PWM}/\text{PWM}+\text{H}}$) der IgE-Werte aus PWM und PWM+Histamin stimulierten T8⁻- Kulturen. Anwendung des Vorzeichentests und Auflistung wie zuvor.

Differenz	H		PWM+H		PWM/PWM+H	
	At	Np	At	Np	At	Np
+	3	4	4	4	4	3
-	7	1	9	3	9	2
0	0	0	0	0	0	2
Signifikanz	ns	ns	ns	ns	ns	ns

Aus Tabelle 40 wird deutlich, daß in Zellansätzen nach alleiniger Zugabe von Histamin die IgE-Spiegel häufiger abfallen als zunehmen. Der Zusatz von Histamin zu PWM führt wiederum in der Atopikergruppe zu weit mehr IgE-Abnahmen als-Steigerungen. Der überwiegend negative Einfluß von Histamin auf die PWM-Stimulation zeigt sich auch im direkten Vergleich mit den nur PWM stimulierten Zellansätzen.

Bei den Normalpersonen zeigte sich demgegenüber in allen drei Vergleichsreihen ein ausgeglichenes Bild, wobei allerdings die relativ kleine Anzahl von Wertepaaren erwähnt werden sollte.

Zusammenfassend läßt sich der überwiegend hemmende Einfluß von Histamin in T 8⁻ - Kulturen von Atopikern festhalten, ohne daß jedoch diesem Unterschied Signifikanz zugesprochen werden könnte. Davon hebt sich das ausgeglichene Verhalten der Kulturen von Normalpersonen ab.

3.4.7. Vergleich zusammengehörender IgE-Werte aus PBL- und T 8⁻-Kulturen

3.4.7.1. Zellkulturen von Atopikern

Um den Effekt der T-Suppressorzellabtrennung abschätzen zu können, wurden für die einzelnen Stimulationsarten (Mitogene, Allergene, Histamin) sowie für die Leerkulturen entsprechende IgE-Meßwerte aus PBL- und T 8⁻-Kulturen zu Paaren zusammengefaßt. Für jeden Atopiepatienten wurden diese Wertepaare mit Vorzeichenzuteilung bewertet, wobei gelten sollte:

$\text{IgE}_{\text{T } 8^-} > \text{IgE}_{\text{PBL}}$	ergibt ein positives Vorzeichen
$\text{IgE}_{\text{T } 8^-} < \text{IgE}_{\text{PBL}}$	ergibt ein negatives Vorzeichen
$\text{IgE}_{\text{T } 8^-} = \text{IgE}_{\text{PBL}}$	ergibt die Differenz 0 und wird nicht berücksichtigt

IgE_{PBL} ist dabei die gemessene IgE-Konzentration in der PBL-Kultur, $\text{IgE}_{\text{T } 8^-}$ entspricht dem IgE-Wert aus dem gleichartig stimulierten Zellansatz der Suppressorzell-depletierten (T 8⁻)-Kultur desselben Patienten.

Die Ergebnisse dieser Versuchsreihe sind in Tabelle 43 dargestellt und ausgewertet.

Zusätzlich wurde neben diesem direkten Vergleich eine Gegenüberstellung der Vorzeichen von ΔIgE 's aus PBL- und T 8⁻-Kulturen der Atopiker vorgenommen. Damit sollte das durchschnittliche Verhalten der IgE-Spiegel für die jeweilige Stimulationsart in Bezug zur Leerkultur in den beiden Versuchsreihen (PBL- und T 8⁻-Kultur) sichtbar und vergleichbar werden. Allerdings schwankten die Fallzahlen je nach vorhandenen Meßwerten, da nicht immer von allen Patien-

ten Werte aus beiden Versuchsreihen verfügbar waren. Deshalb wurden hierfür auch keine statistischen Testmethoden zur Beurteilung herangezogen.

Die Tabelle 44 zeigt diese Gegenüberstellung.

Tabelle 43. Paarweiser Vergleich von IgE-Werten aus PBL- und T8⁻-Kulturen von Atopikern. Beurteilung mit Hilfe des Vorzeichentests. Die Spalten zeigen die Art der Stimulation.

Differenz	LW	PWM	PHA	K	M	G	H	PWM'
+	11	10	9	11	8	7	5	11
-	5	4	3	6	5	5	3	3
0	3	6	5	3	7	7	3	3
Signifikanz	ns	ns	s*	ns	ns	ns	ns	s*

* $p < 0,05$

LW = Leerwert

PWM, PHA = Mitogene

K, M, G = Allergene

H = Histamin

PWM' = PWM + Histamin

Tabelle 44. Gegenüberstellung der Vorzeichenhäufigkeiten von Δ IgE aus PBL- und T8⁻-Kulturen von Atopikern, aufgelistet nach Art der Stimulation.

Stimulation mit	V o r z e i c h e n					
	+		-		0	
	PBL	T8 ⁻	PBL	T8 ⁻	PBL	T8 ⁻
PWM	4	10	8	5	5	1
PHA	5	6	11	4	1	2
K	8	6	7	8	2	4
M	6	6	9	10	2	1
G	9	3	7	10	1	2
H	6	3	6	7	0	0
PWM'	9	4	8	9	0	0

PWM, PHA = Mitogene

K, M, G = Allergene

H = Histamin

PWM' = PWM + Histamin

PBL = Kultur mit Suppressorzellen

T8⁻ = Kultur ohne Suppressorzellen

Bereits beim Vergleich der IgE-Spiegel aus den nicht stimulierten Leeransätzen fiel der steigende Effekt der Suppressorzellabtrennung auf. Wie Tabelle 45 zeigt, hatten auch PWM und PHA in den $T 8^-$ - Kulturen in der Mehrzahl zu höheren IgE Werten als in den entsprechenden PBL - Kulturansätzen geführt. Für die Leerwerte und die PWM-Stimulation lagen diese Unterschiede knapp unterhalb des 5 %-Signifikanzniveaus. Bei PHA war der positive Effekt statistisch signifikant ($p < 0,05$).

Für die drei verwendeten Allergene erbrachte der paarweise Meßwertvergleich ebenfalls mehr IgE-Zunahmen als Abnahmen in der $T 8^-$ - Versuchsreihe. Ein statistisch signifikantes Ergebnis konnte aber für keines der Allergene erhalten werden.

Histamin hatte offensichtlich bei Anwesenheit der T-Suppressorzellen häufiger zu niedrigeren IgE-Konzentrationen geführt als in den Vergleichskulturen der $T 8^-$ - Versuchsreihe. Dieser Unterschied ist jedoch nicht signifikant. Auch bei der kombinierten Stimulation mit PWM + Histamin erbrachte der Vergleich von Wertepaaren ein Überwiegen der positiven Differenzen. Dieser steigende Einfluß der Suppressorzellabtrennung ist statistisch bedeutsam ($p < 0,05$). Der hemmende Einfluß von Histamin scheint somit in der $T 8^-$ - Kultur deutlich nachgelassen zu haben.

In Tabelle 44 zeigt die einfache Auflistung der Δ IgE's aus PBL - und $T 8^-$ - Kulturen, daß der deutlich hemmende Einfluß von PWM und PHA in den PBL - Kulturansätzen zu einem steigenden Effekt in den Vergleichskulturen wird.

Für die beiden Allergene Katzenepithel und Milbenextrakt ergab sich in beiden Versuchsreihen ein ausgeglichenes Bild. Bei Gräserpollen wandelte sich die ausgewogene Zahl von Zu-

nahmen und Abnahmen in der PBL-Versuchsreihe zum leichten Überwiegen der negativen Δ IgE's in den T 8⁻ - Kulturen. Histamin bzw. PWM + Histamin führten nach Abtrennung der Suppressorzellen eher zu negativen Δ IgE's.

Zusammenfassend läßt sich beim direkten paarweisen Vergleich von IgE-Werten aus den PBL - und T 8⁻ - Kulturen von Atopikern eine konstant vorhandene IgE-Steigerung nach Suppressorzellabtrennung nachweisen. Diese lag für einige Zellansätze (LW, PWM) knapp unterhalb des 5 %-Signifikanzniveaus, bei PHA und PWM + Histamin war ein statistisch bedeutsamer ($p < 0,05$) Unterschied aufgetreten.

3.4.7.2. Zellkulturen von Normalpersonen

Wiederum interessierte uns die Frage nach der Wirkung der Suppressorzellabtrennung auf die gemessenen IgE-Werte. Der paarweise Meßwertvergleich wurde wie zuvor für Leerkulturen sowie Stimulation mit Mitogenen, Allergenen, Histamin und PWM + Histamin durchgeführt. Die Vergleichskriterien einschließlich Bewertung blieben gleich.

Ohne Berücksichtigung gepaarter Werte wurden auch für die Normalpersonen die Vorzeichenhäufigkeiten der Δ IgE's aus PBL - und T 8⁻ -Kulturen für die verschiedenen Stimulationsarten aufgelistet.

Die nachfolgenden Tabellen zeigen die erhaltenen Ergebnisse.

Tabelle 45. Paarweiser Vergleich von IgE-Werten aus PBL- und T8⁻-Kulturen von Normalpersonen. Beurteilung mit Hilfe des Vorzeichentests. Die Spalten zeigen die Art der Stimulation.

Differenz	LW	PWM	PHA	K	M	G	H	PWM'
+	5	5	3	5	5	7	4	7
-	3	4	2	2	2	2	1	0
0	0	0	0	1	1	0	0	0
Signifikanz	ns	ns	ns	ns	ns	s [*]	ns	s ^{**}

*p<0,05 **p<0,01

Legende siehe Tab. 43.

Tabelle 46. Gegenüberstellung der Vorzeichenhäufigkeiten von Δ IgE aus PBL- und T8⁻-Kulturen von Normalpersonen, aufgelistet nach Art der Stimulation.

Stimulation mit	V o r z e i c h e n					
	+		-		0	
	PBL	T8 ⁻	PBL	T8 ⁻	PBL	T8 ⁻
PWM	2	5	2	2	2	1
PHA	2	3	2	2	0	0
K	2	3	4	4	1	1
M	4	4	2	4	1	0
G	2	4	3	4	2	0
H	3	4	2	1	3	0
PWM'	2	4	3	3	1	0

Legende siehe Tab. 44.

Aus Tabelle 45 wird deutlich, daß auch bei den Normalpersonen für alle geprüften Stimulationsarten und die Leerwertkulturen die Abtrennung der Suppressorzellen zum Überwiegen der IgE-Zunahmen geführt hatte. Diese Tendenz war bei Leerwert, PWM und PHA weniger deutlich, bei den Allergenen Katzenepithel und Milbenextrakt klar erkennbar. Für Gräserpollen bestand ein signifikanter Unterschied mit $p < 0,05$.

Die Histaminstimulation erbrachte meist höhere IgE-Konzentrationen in den T 8⁻ - Kulturen. In statistisch hochsignifikanter Weise überwog die steigende Wirkung der Suppressorzellentfernung für die kombinierte Stimulation mit PWM + Histamin.

Die Gegenüberstellung der Δ IgE's aus den PBL- und T 8⁻ - Versuchsreihen zeigt für die Mitogene PWM und PHA den Wechsel von ausgewogenem Verhalten in der PBL-Kultur zur überwiegenden IgE-Steigerung in den T 8⁻ - Kulturen. Bei den Allergenen scheint der hemmende Einfluß nachzulassen. Histamin scheint in T 8⁻ - Kulturen eher positiven Einfluß zu gewinnen, PWM + Histamin bleibt beide Male ähnlich ausgewogen.

Insgesamt läßt sich auch bei den Normalpersonen der IgE-Steigernde Effekt einer Suppressorzellabtrennung im direkten Wertevergleich festhalten. Statistisch signifikante Unterschiede wurden für Gräserpollen und PWM + Histamin nachgewiesen.

Leider konnten, wenn beide IgE-Werte unterhalb der Nachweisgrenze lagen, keine Paardifferenzen gebildet werden. Somit mußten manche Tendenzen aus kleinen Fallzahlen abgelesen werden.

Der Vergleich zwischen Atopikergruppe und Normalpersonen soll daher mit Vorbehalt erfolgen. Bei Leerwerten und Mitogenen war die Tendenz zur IgE-Steigerung in den T 8⁻ - Kulturen von Atopikern deutlicher als in denen der Vergleichsgruppe. Allergene, Histamin und PWM + Histamin hatten dagegen bei den Normalpersonen klarer erkennbar zu IgE-Zunahmen in der T 8⁻ - Versuchsreihe geführt.

3.5. Plasma-IgE und in vitro IgE bei Leprapatienten

Von 10 Personen, die an Lepra lepromatosa litten, erhielten wir Blutproben zur Durchführung von Lymphozytentransformationstests. Nach Verwerfen von zwei Blutproben mit Hämolysezeichen wurden aus den restlichen 8 die mononukleären Zellen über Ficoll-Paque isoliert und in Kulturansätze gebracht. Es kamen die unter 2.3. beschriebenen Arbeitsmethoden zur Anwendung, jedoch ohne Suppressorzellabtrennung.

In den Leerkulturen hatte nur ein mäßiger Thymidineinbau stattgefunden. Nach Stimulation mit PWM, PHA und ConA ließen sich nur geringe Steigerungen nachweisen. Als Ergebnisse sollten deshalb nur die gemessenen IgE-Werte aus Plasma und Kulturansätzen der 8 Patienten aufgeführt werden.

In den Tabellen 47 und 48 sind die erhaltenen IgE-Spiegel aufgeführt; die Tabelle 49 zeigt zum Vergleich die IgE-Konzentrationen aus entsprechenden Kulturansätzen von 7 Normalpersonen.

Tabelle 47. Plasma-IgE von 8 Leprapatienten.

	P a t i e n t e n							
	Bu	L.T.	M.Z.	B.T.	Br	Na	R.Z.	N.Z.
IgE _P (U/ml)	6000	3800	170	420	320	1000	5500	2100

IgE_P = Plasma-IgE.

Tabelle 48. Spontanes in vitro IgE und IgE-Werte nach Stimulation durch Mitogene aus Zellkulturen von 8 Leprapatienten.

Lp	IgE _o (U/ml)	IgE _{PWM} (U/ml)	IgE _{PHA} (U/ml)	IgE _{CON} (U/ml)
Bu	11,00	11,60	11,20	9,80
L.T.	2,60	2,40	2,40	2,40
M.Z.	11,00	8,30	8,80	11,00
B.T.	1,60	1,90	1,50	1,60
Br	1,90	1,70	1,60	1,60
Na	3,00	2,60	2,20	2,20
R.Z.	9,90	9,20	8,30	8,30
N.Z.	11,00	11,00	11,00	11,00

Lp = Leprapatienten

IgE_o = Spontanes in vitro IgE (Leerwert)

IgE_{PWM}, IgE_{PHA}, IgE_{CON} = IgE-Werte nach Stimulation mit PWM, PHA und Concanavalin A.

Tabelle 49. In vitro IgE aus PBL- Kulturen von 7 Normalpersonen (Leerwert, Stimulation mit PWM und PHA), sowie entsprechende Plasma-IgE-Werte.

Np	IgE _o (U/ml)	IgE _{PWM} (U/ml)	IgE _{PHA} (U/ml)	Plasma-IgE (U/ml)
24	<0,50	<0,50	<0,50	13
27	<0,50	<0,50	0,54	10
31	0,50	0,60	<0,50	80
32	<0,50	<0,50	<0,50	30
34	<0,50	<0,50	<0,50	20
35	0,70	0,80	0,60	60
36	0,80	0,80	1,10	80

Aus den obigen Tabellen wird deutlich, daß sowohl das Plasma-IgE als auch die *in vitro* IgE-Werte aus Leerkultur und Mitogen stimulierten Kulturen der Leprapatienten erheblich über denen der Normalpersonen lagen. Für die Plasma-IgE-Konzentrationen bestätigte der Wilcoxon-Test diesen Eindruck und weist die Differenz als signifikant ($p < 0,01$) aus.

Ebenso bestehen statistisch signifikante (jeweils $p < 0,01$) Unterschiede zwischen den beiden Gruppen für PWM und PHA stimulierte Zellansätze. Nicht immer übertrafen dabei die IgE-Werte aus PWM oder PHA stimulierten Kulturen die IgE₀-Werte. Bei der Stimulation mit ConA wurden ebenfalls hohe IgE-Konzentrationen gemessen, ein Vergleich mit den Normalpersonen konnte wegen fehlender Werte nicht durchgeführt werden.

4. Diskussion

In der vorliegenden Arbeit wurden die Zellproliferation und die in vitro IgE-Sekretion (nach Stimulation mit Mitogenen, Allergenen und Histamin) in Lymphozytenkulturen von Atopikern und Normalpersonen verglichen. Unser besonderes Interesse galt dabei dem Einfluß von T-Suppressorlymphozyten, der durch spezifische Depletion von T 8-Zellen mit monoklonalen Antikörpern aus der Gesamtpopulation der peripheren Blutlymphozyten (PBL) untersucht wurde. Die Rolle von Monozyten und Eosinophilen wurde ebenfalls geprüft. Zusätzlich wurden IgE-Spiegel aus Lymphozytenkulturen von Lepra-patienten gemessen.

Im Lymphozytentransformationstest (LTT) der vollständigen Zellpopulationen (PBL-Kulturen) führte der Einsatz von Mitogenen zu Proliferationszunahmen, die bei den Atopiepatienten höhere Werte zeigten, ohne jedoch signifikant über jenen aus der Kontrollgruppe zu liegen. Die Stimulation mit Allergenen bewirkte teilweise Proliferationshemmungen, die häufiger bei den Vergleichspersonen auftraten. Für Katzenepithel ergab sich ein statistisch signifikanter Unterschied (deutlich weniger Proliferation bei den Kontrollpersonen).

Im LTT der Suppressorzell-depletierten Kulturen (T 8⁻-Kulturen) erbrachte die Stimulation mit Mitogenen und Allergenen keine statistisch signifikanten Verteilungsunterschiede. Der Vergleich von Wertepaaren aus PBL-Kulturen und T 8⁻-Kulturen von Atopikern ergab für die eingesetzten Mitogene und Allergene bei der kombinierten Stimulation mit PWM + Histamin einen signifikanten Unterschied. Der paarweise Wertevergleich bei den Kontrollkulturen zeigte für Mitogene oder Allergene keinen bedeutenden Unterschied. Eine Abtrennung von Monozyten führte zu keiner deutlichen Hemmung oder Proliferationssteigerung nach Stimulation mit

Allergenen. Bei Einsatz des Mitogens PHA waren nach Monozytenabtrennung signifikant häufiger Proliferationszunahmen aufgetreten.

Die in vitro IgE-Sekretion in PBL-Kulturen von Atopikern übertraf in signifikanter Weise diejenige in den entsprechenden Kontrollkulturen. Bei den Atopiepatienten bestand eine positive Korrelation zwischen Plasma-IgE und in vitro IgE-Sekretion der unstimulierten Kulturansätze. Im Vergleich zu den Kontrollpersonen waren im Differentialblutbild höhere Eosinophilenwerte nachweisbar, die signifikant mit den Plasma-IgE-Spiegeln korrelierten. Die Stimulation mit Mitogenen, Allergenen oder Histamin führte zu keiner signifikanten Beeinflussung der IgE-Konzentrationen, wobei allerdings die Mitogene in der Atopikergruppe eine deutlich hemmende Wirkung hatten.

Im Gegensatz zu den oft erheblichen Schwankungen zwischen den IgE-Spiegeln der verschiedenen Versuchspersonen zeigten die IgE-Werte aus Kulturansätzen der gleichen Personen geringe Variationsbreiten. Die in einigen PBL-Kulturansätzen durchgeführte Monozytenabtrennung führte bei Stimulation mit Mitogenen oder Allergenen meist zu einer Erniedrigung der IgE-Spiegel in den Überständen.

Nach Abtrennung der T-Suppressorlymphozyten (T 8⁻-Kulturen) kam es zu einem Ansteigen der IgE-Spiegel in den Kulturansätzen der Atopikergruppe. Deutlich war dies bei Stimulation mit Mitogenen, wobei für PHA und PWM + Histamin der positive Einfluß signifikant war. Bei den Kontrollpersonen bewirkte die Suppressorzellentfernung ebenfalls ein Ansteigen der IgE-Spiegel.

In Zellkulturen von Leprapatienten fanden sich durchwegs deutlich höhere spontane IgE-Sekretionsraten als bei Ver-

gleichspersonen ($p < 0,05$). Ebenso verhielten sich die gemessenen Plasma-IgE-Werte.

Im folgenden sollen die wichtigsten Ergebnisse genauer besprochen werden.

4.1. Lymphozytentransformationstest (LTT)

4.1.1. Der LTT als Prüfmodell der Immunfunktion

Nowell et al. (102) berichteten 1958 über Lymphozytenkulturen, in denen das zuvor zur Erythrozytenabtrennung verwendete pflanzliche Protein PHA zu erhöhten Mitoseraten geführt hatte. Weitere, in der Folgezeit entdeckte unspezifische mitogene Substanzen (PWM, ConA u. a.) ließen bei den damit stimulierten Lymphozyten charakteristische morphologische Veränderungen sichtbar werden, die als "blastoide Lymphozytentransformation" bezeichnet wurden.

Im LTT werden Lymphozyten entweder unspezifisch durch Mitogene (PWM, PHA u. a.) oder spezifisch durch Antigene (z. B. Tuberkulin, Allergene) entsprechend dem vorhandenen Sensibilisierungsgrad zur Proliferation angeregt. Damit bietet sich der LTT an als in vitro-Modell zur Prüfung der Lymphozytenfunktion in der Immunantwort bzw. zum Nachweis spezifischer Sensibilisierung gegenüber Antigenen, ohne Belästigung der Patienten und ohne zusätzliches Risiko neuer Sensibilisierung durch Antigenexposition.

Eine Beurteilung des vermuteten T-Zelldefektes und der häufigen Sensibilisierung gegen Katzenepithel, Gräserpollen oder Milbenextrakt bei Atopikern im Vergleich zu Kontrollpersonen erfolgt in Zusammenschau mit einigen der beeinflussenden Faktoren, die vom Patienten ausgehen oder aus den Kulturbedingungen resultieren.

4.1.2. Beeinflussung des LTT durch patientenbedingte Faktoren

Periphere B- und T-Blutlymphozyten als leicht zugänglicher Teil des Lymphozytenpools im Körper bilden zusammen mit

Monozyten das im LTT getestete zelluläre Netzwerk. Die aus dem peripheren Blut abgetrennten mononukleären Zellen setzen sich aus ca. 10 % Monozyten und 90 % Lymphozyten zusammen (164). Bei derselben Person bleibt die absolute Zahl an Blutlymphozyten über die verschiedenen Jahreszeiten hinweg unabhängig vom Lebensalter (abgesehen von der frühen Kindheit) relativ konstant (16). Allerdings besitzen Kinder relativ mehr T-Lymphozyten, im höheren Alter überwiegen die B-Lymphozyten (34). Trotz der relativ konstanten Lymphozytenzahlen im Jahresverlauf sinkt allerdings der prozentuale B-Zellanteil auf den tiefsten Wert im Sommer und steigt auf den doppelten prozentualen Wert im Winter an (16). Tageszeitliche Schwankungen der Lymphozytenkonzentrationen werden mit den Blutcortisolspiegeln in Verbindung gebracht (41), wobei im LTT Lymphozytenproliferationsraten mit Schwankungen proportional zu den Cortisolwerten beschrieben wurden (150). Über eine umgekehrte Proportionalität wurde allerdings ebenfalls berichtet (41). Als Auswirkung von Streßsituationen wurde ein prozentuales Ansteigen der T-Helfersubpopulation innerhalb der T-Lymphozyten, verknüpft mit erhöhten Plasmacortisolspiegeln beschrieben (6).

Als eine mögliche Ursache für veränderte Proliferationsreaktionen von Atopikerlymphozyten wird ein Defekt im Bereich der T-Lymphozyten vermutet. Die wichtige Rolle der T-Lymphozyten für die IgE-Bildung wurde 1971 von Tada et al. (149) erkannt, als sie nach Ganzkörperbestrahlung (trifft vor allem T-Zellen) sowie Gabe von Antilymphozytenserum eine Steigerung von bereits laufenden IgE-Antworten erhielten. Beim Nachweis von T-Zellen über die spontane Rosettenbildung mit Schaferlythrozyten fanden McGeady und Buckley (46) bei Patienten mit atopischem Ekzem erniedrigte Spiegel von zirkulierenden T-Zellen. Strannegard et al. (145) interpretierten in ihren Versuchen mit Atopikerlymphozyten die Diskrepanz zwischen den durch Rosettierung gewonnenen T-Zellen und den im Verhältnis dazu erniedrigten Proliferationsraten

nach Gabe von T-Zellmitogenen (PHA, ConA) als qualitativen oder quantitativen Defekt innerhalb der T-Zellsubpopulationen. Normale Proliferationsantworten auf PHA bei Patienten mit atopischem Ekzem fanden demgegenüber Grove und Mitarbeiter (54). Braathen et al. (15) beobachteten bei Patienten mit atopischem Ekzem einen verminderten Prozentsatz an Lymphozyten mit Rezeptoren für Schaferythrozyten, der gut mit anti-T-Zellantiserum reagierten. Die Arbeitsgruppe um Leung (86) stellte mit Hilfe monoklonaler Antikörper gegen Oberflächenantigene Helfer-T-Lymphozyten (T 4), Suppressor-T-Lymphozyten (T 8) und die Gesamtheit der peripheren T-Zellen (T 3) dar. Dabei fanden sie das Verhältnis T 4/T 8-Zellen bei Atopikern im Vergleich zu Kontrollpersonen erhöht und interpretierten dies als Mangel an T-Suppressorzellen. Jensen (70) bestätigte dies durch den Nachweis erniedrigter Zahlen von T γ -Zellen. Normale Werte von T-Suppressor- und T-Helferzellen bei Atopikern beschrieb Matloff (93) und erklärte den vermuteten Defekt durch eine verminderte Produktion von Suppressorsignalen durch T-Lymphozyten. Stingl et al. (141) wiederum fanden 1981 reduzierte prozentuale Werte von T γ -Zellen. Zwei Jahre später zeigte Jensen (72), daß Serum von Patienten mit atopischem Ekzem bei T-Zellen von gesunden Kontrollen zu keinem Abfall der meßbaren Fc-Rezeptoren für IgG (und damit der als T γ -Zellen identifizierbaren Lymphozyten) führte. Durch Immunkomplexe in vivo blockierte Fc-IgG Rezeptoren konnten damit nicht für die erniedrigten T γ -Lymphozyten bei Patienten mit atopischem Ekzem verantwortlich gemacht werden. Eben diesen Verlust von Fc γ -Rezeptoren über Interaktion mit IgG-Immunkomplexen hatte Moretta ein Jahr zuvor in einem in vitro Modell beschrieben (97). Ishizaka und Mitarbeiter (167) beobachteten, daß Rattenlymphozyten in vitro Fc γ -Rezeptoren in Fc ϵ -Rezeptoren (d. h. Rezeptoren für IgE) umwandelten, wenn sie hohen IgE-Konzentrationen ausgesetzt wurden. Spiegelberg konnte dieses Phänomen bei in vitro

Kulturen menschlicher Lymphozyten nicht nachvollziehen (137). Allerdings haben Atopiker erhöhte Spiegel an $\text{Fc}\epsilon$ -Rezeptoren tragenden Lymphozyten, was er eher auf eine in vivo Antigenexposition zurückführt als auf die Serum-IgE-Spiegel alleine (137). Eine Induktion von $\text{Fc}\epsilon$ -Rezeptoren durch in vivo aktivierte Lymphozyten könnte somit für die niederen Spiegel an T-Zellen bei Atopikern verantwortlich sein. Trotz der von vielen Autoren vermuteten T-Suppressorzellschwäche bei Atopikern herrscht wenig Klarheit darüber, wie dieser quantitative bzw. qualitative Defekt näher definiert werden könnte.

Vor dem eigentlichen Beginn einer Lymphozytenkultur ist also bereits eine Fülle von probandenabhängigen Variablen unvermeidbar. Eine mögliche Beeinflussung unserer Versuche durch probandenbedingte Faktoren sollte folgendermaßen verringert werden:

1. Abnahme der Blutproben in einem festgelegten Zeitraum (vormittags bis spätestens 10.00 Uhr).
2. Verarbeitung dieser Blutproben ohne große zeitliche Verzögerung.
3. Aufnahme von Atopikern und Kontrollpersonen in den jeweils laufenden Versuchsansatz, so daß die Atopikergruppe und die Kontrollgruppe gemeinsam über den jahreszeitlichen Verlauf hin untersucht wurden.
4. Ähnliche Zusammensetzung von Atopikergruppe und Kontrollgruppe im Hinblick auf Alter und Geschlecht.
5. Vermeidung pharmakologischer Effekte dadurch, daß Personen unter systemischer Behandlung mit Kortikosteroiden nicht in die Versuche aufgenommen wurden.

4.1.3. Einfluß der Kulturbedingungen auf den LTT

In vitro Lymphozytenkulturen ermöglichen das Beobachten von Lymphozytenproliferationsreaktionen in einem künstlich geschaffenen, standardisierbaren Milieu. Somit kann durch Veränderung einzelner Faktoren deren Einfluß auf das Kulturverhalten untersucht werden.

Wie schwierig allerdings der Ergebnisvergleich zwischen verschiedenen Arbeitsgruppen ist, zeigt das breite Spektrum der jeweils gewählten Kultivierungszeiten und der dabei eingesetzten Zelldichten. Während die Arbeitsgruppe um Zuraw (171) mit einer Zelldichte von $1,5 \times 10^6$ /ml arbeitete, verwendeten Tijo et al (153) $1,3 \times 10^6$ Zellen/ml und Urena et al. (154) $10 - 15 \times 10^6$ Zellen/ml. Kultivierungszeiten werden angegeben als Zeiträume von 1 - 9 Tagen (134). Anreicherung oder Depletierung von T-Zellsubpopulationen oder B-Zellanreicherung sind zusätzliche mögliche Varianten.

Wichtig ist, daß ein gleichmäßiger Einbau des zugegebenen ^3H -Thymidin erfolgen kann. Neben der angewandten Konzentration dieser Substanz beeinflußt vor allem die Zahl der in Kultur gehaltenen Zellen die später gemessenen Aktivitäten (5). Eine zu hohe Zelldichte kann über einen unregelmäßigen Thymidineinbau zu falsch niedrig gemessenen Proliferationsraten führen. Verschiedene Autoren (131,165) empfehlen, nicht mehr als $1,5 \times 10^6$ Zellen/ml einzusetzen. Hofmann et al (60) fanden bei $1 - 3 \times 10^5$ Zellen pro ml Kulturmedium im Vergleich zu höheren oder niedrigeren Zellkonzentrationen die beste, Antigen-abhängige Antikörperproduktion in vitro. Weiterhin beobachteten sie, daß bei sonst identischen Bedingungen in Kulturplatten mit runden Vertiefungen wesentlich niedrigere IgE-Spiegel auftraten als in solchen mit flachen Vertiefungen. Möglicherweise wird auch die Zellproliferation dadurch beeinflusst.

Die Zellsuspensionen nach Dichtegradzentrifugation bestehen aus etwa 80 % - 90 % Lymphozyten, 10 % - 20 % Monozyten sowie aus eventuell verbliebenen Erythrozyten und Granulozyten. Innerhalb der Lymphozyten bilden die Thymus-abhängigen Populationen (T-Lymphozyten) mit etwa 70 % den größten Anteil. T-Zellen, über spontane Erythrozytenrosettierung isolierbar, können nach Moretta und Mitarbeitern (96) aufgrund von Oberflächenrezeptoren für IgG (T₈-Zellen mit Suppressorfunktion) oder für IgM (T₄-Zellen mit Helferfunktion) weiter in Subpopulationen aufgeteilt werden. Monoklonale Antikörper gegen Oberflächenantigene charakterisieren ebenfalls T-Zellen mit Helferfunktion (T 4) oder mit Suppressor-/cytotoxischer Funktion (T 8) (84 , 42 , 45).

Über erniedrigte T-Helferzellspiegel in Abhängigkeit von Temperatur und Aufbewahrung der Blutproben berichtet Murray (99). Über Nacht bei 4 °C gelagerte Blutproben wiesen aufgrund von T-Helferzellaggregaten eine erniedrigte T-Erythrozytenrosettierung bei normalen T-Suppressorzellspiegeln auf, während bei sofortiger Abtrennung von Lymphozyten oder Aufbewahrung bei 22 °C keine Veränderungen auftraten.

Verschiedene Arbeitsgruppen (135, 70) beschrieben eine reduzierte Suppressorzellaktivität bei Atopikern in Mitogen-stimulierten Kulturen. Jensen et al (70) konnten die verminderte Suppressorzellaktivität von Patienten mit atopischem Ekzem durch erhöhte Mitogendosen ausgleichen. Martinez et al (92) fanden im Gegensatz zu Strannegard und Strannegard (145) keinen Defekt in der Aktivität von ConA induzierten Suppressorzellen im Hinblick auf Mitogen-bedingte Proliferationsantworten. Andere Autoren vermuten ein relatives Überwiegen von T-Helferlymphozyten über T-Suppressorlymphozyten (22) als Ursache für verstärkte B-Zellproliferationen. Über eine verminderte T-Zellproliferation in vitro (46) sowie über ein fehlendes Ansteigen von Proliferation und IgE-Spiegeln nach T-Suppressorzellabtrennung (156) bei Atopikern wird ebenfalls berichtet.

Aufgrund zum Teil widersprüchlicher Aussagen läßt sich somit der vermutete T-Suppressorzelldefekt bei Atopikern nicht eindeutig definieren.

Die Rolle der Monozyten wird ebenfalls unterschiedlich gesehen. In älteren Berichten (52, 164) wird ihnen keine wesentliche Wirkung auf die Lymphozytenproliferation zugeschrieben. Die Arbeitsgruppen um Peest (105), Gmelig-Meyling (50) und Danis (37) schreiben den Monozyten sowohl Helfer- als auch Suppressorfunktion zu. Hohe Monozytenzahlen (über 20 %) üben in Lymphozytenkulturen hemmende Wirkung aus, niedere Spiegel führen zu Proliferationszunahmen. D. Peest erhielt eine bessere Lymphozytenproliferation und höhere IgE-Werte nach PWM-Stimulation in Anwesenheit von Makrophagen, wobei allerdings sehr hohe Monozyten/Makrophagenzahlen eher hemmende Wirkung hatten. Ihren Einfluß auf Lymphozytenproliferation und/oder Lymphokinproduktion entwickeln Monozyten möglicherweise über die Freisetzung von Prostaglandin E_2 (PGE_2) (170). Matloff (93) wies bei Monozyten von Atopikern ein vermindertes Ansprechen auf Suppressorsignale nach, was sich in einer erniedrigten PGE_2 -Produktion niederschlug.

Üblicherweise wird Serum bis zu einem Prozentanteil von 10 - 20 dem Kulturmedium zugegeben. Angewendet werden Humanserum der Blutgruppe A oder AB (110, 133), inaktiviertes Kälberserum, fetales Kälberserum (FCS) (24) oder andere. Byrom et al. (24) fanden in Zusammenschau mit anderen Arbeitsgruppen, daß FCS zu einer Steigerung der spontanen Erythrozytenrosettierung von Atopikerlymphozyten führt. Sie interpretierten diese Zunahme der Rosetten-bildenden Zellen als Induktion von "Null"-Lymphozyten durch FCS und sahen einen möglichen Zusammenhang zwischen diesen "unreifen", FCS-induzierbaren T-Lymphozyten und der mangelnden T-Zell-vermittelten Suppression der IgE-Antwort. Die Wirkung von Serum

auf die Lymphozytenproliferation wird z. T. widersprüchlich gesehen. Über eine Hemmung der PHA-Antwort (165) wird genauso berichtet wie über eine Verstärkung der Proliferationsreaktion auf PWM (52).

Bei in vitro Stimulation von Lymphozyten gesunder Probanden mit Mitogenen findet man gewöhnlich ein breites Spektrum an Proliferationsantworten. Dabei spielen nicht nur interindividuelle Faktoren eine Rolle (170), sondern auch der jeweilige Herkunftsort (peripheres Blut, Milz, Tonsillen) der Lymphozyten (52) sowie die angewendeten Mitogenkonzentrationen (170). Neben dem regulierenden Einfluß von Monozyten über Interleukin 1 und Prostaglandine (44, 170) bahnen Interaktionen zwischen B- und T-Lymphozyten den Weg für die Proliferationsantwort. Am Beispiel der PWM-Stimulation zeigten Puck und Rich (110), daß die Einteilung in B-Zellaktivatoren und T-Zellaktivatoren ein zu grobes Raster darstellt. Neben einer B-Zellstimulation beobachteten sie bei Einsatz von PWM eine Zunahme von T-Suppressorlymphozyten, die von einer zuvor erfolgten T-Helferzellproliferation abhing und im Sinne einer Feedback-Inhibition auf diese wirkte. Dieser Feedback-Mechanismus könnte beispielhaft für das Zustandekommen physiologischer Immunantworten in vitro gesehen werden. PWM-reaktive B-Lymphozyten sind nach Ansicht von Stevens et al. (140) bezüglich der Immunglobulinproduktion bereits in vitro getriggert.

Über eine Allergen-induzierte Proliferation von peripheren Blutlymphozyten liegen Berichte vor (19, 12, 58). Bei Einsatz des Hausstaubmilbenantigens P_1 im LTT fanden Rawle und Mitarbeiter (112) bei Atopikern, unabhängig von der Art der Erkrankung, erhöhte Interleukin-2-Spiegel und anschließend Proliferation hauptsächlich von sensibilisierten T-Helferzellen. Ähnliches wurde nach Einsatz von Antigen E (aus

Ragweed-Pollen = ambrosia elatior, ein häufiges Allergen in Nordamerika) im LTT bei Ragweed-Allergikern beobachtet (12).

Mit dem LTT steht zwar ein in vitro Modell zur Prüfung der Immunfunktion zur Verfügung, aber die Fülle der möglichen verfälschenden Einflüsse einerseits und die z. T. widersprüchlichen Versuchsergebnisse vieler Arbeitsgruppen andererseits weisen klar auf die Probleme und Schwierigkeiten derartiger Untersuchungen hin.

Die Ergebnisse anderer Arbeitsgruppen, meist bei unterschiedlichen Versuchsbedingungen erhalten, sollten, wie viele Autoren in ihren Ergebnisberichten abschließend empfehlen, nur unter Vorbehalt direkt verglichen werden. Unsere Vergleichswerte stammen daher aus den unter identischen Bedingungen durchgeführten Kulturen bei Normalpersonen.

4.1.4. Einfluß von Monozyten auf die Zellvermehrungsraten

Bei der Stimulation mit den Mitogenen PWM und PHA hatte die Monozytenabtrennung nur in den PHA stimulierten Kulturen eine deutliche Veränderung der Proliferationsraten bewirkt. In Monozyten-depletierten Kulturen reagierten die Zellen signifikant häufiger mit höheren Wachstumsraten auf die Stimulation mit PHA. Unter Umständen läßt sich diese Beobachtung in Einklang bringen mit der These, daß die modulierende Wirkung von Monozyten auf T-Lymphozyten vornehmlich hemmenden Charakter hat. Wie oben beschrieben, würden dabei wenige Monozyten in Kultur zu Proliferationssteigerungen führen, während hohe Monozyten Spiegel sich hemmend bemerkbar machen - vor allem bei Anwendung des T-Zellmitogens PHA.

Bei Stimulation mit den drei von uns verwendeten Allergenen war kein Einfluß der Monozyten auf die Wachstumsraten erkennbar.

4.1.5. Vergleich der Lymphozytentransformation von Atopikern und Normalpersonen

Nach Stimulation mit den Mitogenen PWM und PHA ergaben sich keine statistisch bedeutsamen Unterschiede zwischen Atopikern und Kontrollpersonen. In beiden Gruppen hatten diese Mitogene stets zu Proliferationszunahmen geführt, wobei diese bei den Atopikern insgesamt ausgeprägter waren. Möglicherweise ist dafür - wenn man das von Puck (110) beschriebene Modell der Lymphozyteninteraktion nach PWM Stimulation zu Rate zieht - eine durch T-Suppressorzellschwäche bedingte, mangelnde Feedback-Proliferationshemmung verantwortlich.

Erstaunlicherweise waren nach Zugabe von Allergenen sowohl in den Atopikerkulturen als auch in den Kontrollkulturen etliche Zellansätze aufgefallen mit im Vergleich zu den Leerkulturen geringeren Zählwerten. Bei Einsatz von Katzenepithel lagen allerdings in der Atopikergruppe, trotz einiger Kulturen mit Wachstumshemmung, die durchschnittlichen Proliferationszunahmen signifikant höher als bei den Normalpersonen. Für Gräserpollen und Hausstaubmilbenextrakt würde man entsprechend einer vermutlich höheren Sensibilisierungsrate bei Atopikern ein ähnliches Ergebnis erwarten. Dennoch reagierten die Zellansätze einiger Kontrollpersonen ebenfalls mit Proliferationszunahmen, so daß sich keine deutlichen Unterschiede zwischen beiden Gruppen ergaben. Wider Erwarten und im Gegensatz zu Rawle et al. (112) zeigten unsere Atopikerzellen ein heterogenes Reaktionsmuster

nach Allergenangabe. Ob möglicherweise zu hohe Allergenkonzentrationen (Unterschiede zwischen Allergikern und Kontrollen erst in niedrigeren Bereichen?) dafür verantwortlich sind, werden die in unserem Labor durchgeführten Dissertationen von B. Kunz und Abd el Saboor zeigen.

4.1.6. Auswirkungen der Suppressorzellabtrennung auf die Lymphozytentransformation

Auf die Stimulation mit PWM und PHA hatte die T-Suppressorzelldepletierung bei Atopikern keinen Einfluß. Die durchschnittlichen prozentualen Proliferationszunahmen im Vergleich zu den Leerkulturen wie auch der direkte Vergleich zusammengehöriger Δ CPM-Werte zeigte keine ausgeprägte Beeinflussung. Bei den Kontrollpersonen fällt allerdings auf, daß PHA nach T 811-Zellabtrennung eine niedrigere prozentuale Proliferationszunahme hervorruft. Beim direkten Vergleich der Δ CPM-Werte läßt sich jedoch auch hier kein signifikanter Unterschied feststellen.

Die geringe stimulierende Wirkung von Allergenen wird sowohl in den Atopikerkulturen als auch in den Kontrollansätzen durch die Suppressorzellabtrennung nicht verändert.

Zusammenfassend läßt sich sagen, daß die Abtrennung der T-Suppressorgesamtpopulation keinen entscheidenden Einfluß auf das Proliferationsverhalten nach Mitogenstimulation (PWM, PHA) oder Allergenstimulation (Katzenepithel, Milbenextrakt, Gräserpollen) in den beiden Probandengruppen hat.

4.1.7. Einfluß von Histamin auf die Lymphozytentransformation

Histamin wird eine hemmende Wirkung auf zytotoxische Lymphozyten (108), auf die Proliferationsantwort von T-Lymphozyten nach Mitogenstimulation (152) sowie auf die Immunglobulinproduktion durch periphere humane Blutlymphozyten (88) zugeschrieben. Letzteres konnten Hovmark et al. (63) allerdings nicht bestätigen. Die regulatorischen Einflüsse von Histamin laufen über Vermittlung von Histamin-Typ 2 -Rezeptoren (H-2) (53). Über die Freisetzung von Histamin induziertem Suppressorfaktor (HSF) durch H-2 Rezeptoren tragende T-Lymphozyten werden Monozyten zur gesteigerten Produktion von Prostaglandinen angeregt. Diese wiederum hemmen entweder direkt das Lymphozytenwachstum und/oder die Lymphokinproduktion oder aktivieren weitere Suppressorzellen (93). Im Gegensatz zu den Arbeitsgruppen um Strannegard (144) und Wang (157) fanden Matloff und Mitarbeiter (93) im LTT von Atopikern eine verminderte Histamin-induzierbare Suppressorzellaktivität und reduzierte H 2-Rezeptoren auf T-Zellen im Vergleich zu Normalpersonen.

Gegen diese Theorien spricht, daß Nicht-Atopiker mit systemischer Mastozytose diese beiden Veränderungen nicht aufweisen, so daß die reduzierte, Histamin-abhängige Suppressorzellantwort bei Atopikern nicht einfach als "down regulation" durch chronische Histaminexposition in vivo interpretiert werden kann. Vielmehr muß dieses Phänomen als primär mit der atopischen Diathese verknüpft gesehen werden (9).

Nach Zusatz von Histamin sanken die durchschnittlich erhaltenen Proliferationsantworten auf PWM in den PBL-Kulturen sowohl bei den Atopikern als auch bei Normalpersonen. Diese erkennbare Hemmung war bei den Normalpersonen stärker ausgeprägt. Somit können wir den von verschiedenen Autoren

(siehe 4.1.3.) geschilderten hemmenden Einfluß von Histamin auf die Proliferationsantwort nach Mitogengabe für das Beispiel PWM bestätigen.

Erstaunlicherweise reagierten nach Abtrennung der T-Suppressorlymphozyten die Zellkulturen der Kontrollpersonen auf PWM + Histamin mit einer durchschnittlich höheren Proliferationszunahme als diejenigen der Atopiker. Während der Zusatz von Histamin zur PWM Stimulation in den Atopikerkulturen eine minimal abgeschwächte Proliferationsantwort im Vergleich zur reinen PWM Stimulation zur Folge hatte, war bei den Kontrollpersonen dieser Effekt nicht mehr nachweisbar.

In beiden Gruppen besitzt Histamin demnach keinen ausgeprägt hemmenden Einfluß, wenn die T-Suppressorzellsubpopulation fehlt.

Im Überblick läßt sich somit sagen, daß die kombinierte Stimulation mit PWM + Histamin bei Atopikern zu ähnlichen durchschnittlichen Proliferationszunahmen in PBL- und T 8⁻-Kulturen führt, wobei andererseits im direkten Vergleich von CPM-Wertepaaren diejenigen aus den Suppressorzell-depletierten Kulturen signifikant tiefer lagen. Bei den Kontrollpersonen hemmt Histamin nach Abtrennung der Suppressorzellen die PWM-Wirkung nicht mehr, so daß hieraus auf eine intakte Histamin-vermittelte Suppression in den PBL-Kulturen von Normalpersonen (im Gegensatz zu den Atopikern) geschlossen werden kann.

4.2. Immunglobulin E (IgE)

Ishizaka und Mitarbeiter (64) sowie Johansson und Bennich (10) zeigten in der Mitte der sechziger Jahre unabhängig voneinander, daß die sogenannten Reagin-Antikörper einer bis dahin unbekannten Immunglobulin-Klasse angehören, welche später auf Vorschlag beider Arbeitsgruppen IgE genannt wurde. Wie andere Antikörper stammt das IgE-Molekül (Molekulargewicht 190.000 Dalton) von Plasmazellen und besteht aus zwei Antigen-bindenden Stellen im Fab-Bereich des Moleküls sowie aus einem im Vergleich zum IgG etwas längeren Fc-Ende (Fc ϵ). Oberflächenrezeptoren für Fc ϵ -Determinanten finden sich nicht nur auf Basophilen und Mastzellen (hohe Affinität), sondern auch auf Granulozyten, Monozyten, Thrombozyten und Lymphozyten (niedrige Affinität). Das reversibel gebundene IgE steht im Gleichgewicht mit dem frei zirkulierenden. Über Brückenbildung (durch spezifisches Allergen, Anti-IgE-AK oder Anti-IgE-Rezeptor-AK) werden Kalzium- und energieabhängige Vorgänge ausgelöst, die zur Freisetzung und Neubildung verschiedener Mediatoren führen. Mit Hilfe der 1972 von Ceska und Lundkvist (29) beschriebenen Radioimmunassay-Technik zur routinemäßigen Bestimmung von Gesamt-IgE-Spiegeln wurden nicht nur bei Atopikern, sondern auch bei Rauchern (48), bei Patienten mit Karzinomen (68), Parasitosen (103), chronisch obstruktiven Lungenerkrankungen (158), Hautkrankheiten (75) und bei Vorliegen von Immunschwächezuständen (18) sowie bei zahlreichen entzündlichen Dermatosen (109 a) erhöhte IgE-Konzentrationen gemessen.

4.2.1. Eosinophile und IgE

Erhöhte Werte (normal 2 % - 4 % (116)) von eosinophilen Granulozyten im Blut und/oder Geweben können angetroffen

werden bei Parasitosen, immunologischen Erkrankungen, Neoplasien und beim Hypereosinophiliesyndrom, das zwischen Autoaggressionskrankheiten und myeloproliferative Syndrome einzuordnen wäre (56, 151).

Zur guten Abgrenzbarkeit der zur Eigenbewegung und Phagozytose fähigen Zellen führen die auffälligen zytoplasmatischen Granula, von denen sich ein Großteil wegen des Gehaltes an basischen Proteinen mit dem sauren Farbstoff Eosin rotgolden darstellen läßt.

An der Zelloberfläche finden sich Rezeptoren für Fc-Teile von IgG und IgE sowie für die Komplementkomponente C3b (161, 28, 26). Bei Patienten mit Eosinophilie ist der Prozentsatz an Rezeptor-tragenden Eosinophilen deutlich höher (161, 162).

Beide obengenannten morphologischen Charakteristika erklären folgende interessante Phänomene:

1. Antikörper- oder Komplement-abhängiger zytotoxischer Effekt auf Parasiten, insbesondere Larvenstadien von Helminthen (23, 65)
2. Fähigkeit zur Inaktivierung von aus Mastzellen freigesetzten Mediatoren und damit Regulation von Vorgängen mit IgE-vermittelter Mastzelldegranulation (23, 161)

zu 2.:

Bekannt ist, daß Eosinophile auf chemotaktische Faktoren aus Mastzellen reagieren, so z. B. auf Oxidationsprodukte der Arachidonsäure wie "hydroxy-eicosatetraenoic acid" (HETE) und Leukotrien B₄ (LTB₄), auf Spaltprodukte der Komplement-

kaskade (C5a, C 5 6 7) und auf Histamin in niederen Konzentrationen (159, 161, 23). Dementsprechend finden sich vermehrt Eosinophile an Orten mit IgE-vermittelten Reaktionen, insbesondere an Kontaktflächen des Körpers zur Umwelt (Haut, Respirationstrakt, Verdauungskanal). Hautbiopsien vor und nach lokaler Stimulation mit "Ragweed"-Antigenen bei entsprechender Sensibilisierung belegen diese Eosinophileneinwanderung (2). Zudem läßt sich bei Patienten mit atopischem Ekzem und Bluteosinophilie in histologischen Untersuchungen von befallenen Hautbezirken im Gegensatz zu gesunden Hautarealen reichlich aus Eosinophilengranula stammendes Proteinmaterial (z. B. "major basic protein") nachweisen (85).

Die Eosinophilenproduktion im Knochenmark scheint unter T-Zellkontrolle zu stehen, worauf die fehlende Eosinophilenbildung nach Infektion mit Parasiten bei thymektomierten oder kongenital thymuslosen Mäusen (161) ebenso hinweist wie die in vitro Produktion von eosinophilopoetischen Faktoren durch Antigen- oder Mitogen-stimulierte Lymphozyten (8, 161).

Zahlreiche Arbeiten liefern Anhaltspunkte für eine mögliche Modulator-/Effektorfunktion von eosinophilen Granulozyten bei Vorgängen, die mit erhöhtem IgE und/oder Eosinophilie einhergehen:

- Reaktion auf sowie Aktivierung durch chemotaktische Faktoren aus Mastzellen, Inaktivierung von aus Mastzellen freigesetzten Mediatoren (23, 161, 49, 159).
- Häufig anzutreffende Bluteosinophilie bei Allergiepateinten sowie Anhäufung von Eosinophilen an Orten mit IgE-vermittelten Reaktionen (56, 161, 23, 2, 85).

- Nachweis von C3-, Fc γ - und Fc ϵ -Rezeptoren auf Eosinophilen, wobei letztere bei Allergiepateinten deutlich zunehmen (161, 28', 26, 162).
- Direkte Aktivierung IgE-tragender Eosinophiler durch spezifische Antigene (28, 27) mit anschlieBendem zytotoxischen Effekt besonders der sogenannten "hypodensen" (partiell degranulierten) Eosinophilen (27).

Somit lieBe sich die Hypothese formulieren, daB bei der Antigenabwehr über IgE und Mastzellreaktion die Rolle der herbeigelockten Eosinophilen einerseits in der zytotoxischen Wirkung auf z. B. Parasiten liegt und andererseits in der Modulation oder Suppression der die Eosinophilenanhäufung verursachenden Reaktion. Noch ist allerdings nicht sicher, ob die in vivo Funktion der Eosinophilen diesem Modell ganz entspricht.

4.2.2. Regulation der IgE-Bildung

Die alte Beobachtung, daB Allergien familiär gehäuft auftreten, konnte nach Entdeckung des IgE auch für dieses Immunglobulin in Studien bestätigt werden. Barbee et al. (7) fanden in einem Bevölkerungsquerschnitt die höchsten IgE-Werte bei den 6- bis 14-Jährigen, die niedrigsten bei über 75-jährigen Frauen, wobei Männer in jedem Alter (andere Rauchgewohnheiten, Leberschäden?) höhere IgE-Spiegel hatten als gleichaltrige Frauen. Personen mit Atopieanamnese und positiven Hauttests hatten dabei um ein Vielfaches höhere IgE-Werte als Nichtatopiker. Ein hoher IgE-Spiegel im Nabelschnurblut ist häufig verknüpft mit hohem IgE in den ersten Lebensmonaten/-jahren und positiven Hauttests sowie späterer Entwicklung atopischer Erkrankungen (35).

Dies spricht dafür, daß bereits Neugeborene geprägt sind in Richtung "hohe IgE-Antwort" oder "niedrige IgE-Antwort". Hohes IgE bei Geburt und Atopie-positive Familienanamnese weisen nach Kjellmann (82) auf die Entwicklung einer atopischen Krankheit im späteren Leben hin. Immunantwort-Gene im Bereich des Histokompatibilitätskomplexes sind nach McDevitt (38) und Levine et al. (155) für die Kontrolle der IgE-Antwort von Mäusen auf Proteinantigene verantwortlich. Marsh und Mitarbeiter (91) untersuchten die Genetik der Immunantwort beim Menschen und fanden für die Kontrolle des Gesamt-IgE ein HLA-unabhängiges "major IgE regulating gene", wobei das Merkmal "hohes Gesamt-IgE" autosomal rezessiv auftritt. Die Bildung spezifischer IgE-Antikörper ist teilweise an das HLA-System gekoppelt, so z. B. die IgE-Antwort auf das Kreuzkrautantigen Ra5 an den HLA Typ Dw2 (119). Wüthrich (163) fand bei eineiigen Zwillingen eine deutlich höhere Konkordanzrate für die spezifische IgE-Bildung gegen bestimmte Allergene als bei zweieiigen. Johansson (74) zieht aus einer Studie mit schwedischen Farmern den Schluß, daß eine angeborene Tendenz zur Allergieentwicklung durch unspezifische Faktoren (möglicherweise Virusinfekte, Luftverschmutzung, Rauchen) verstärkt wird und je nach der spezifischen Umgebung (Exposition) sich auf bestimmte Antigene ausrichtet (hier Getreidespeichermilben bei den untersuchten Farmern).

Welche Faktoren beeinflussen die IgE-Bildung im heranwachsenden Organismus? Hier kommt den T-Lymphozyten eine besondere Rolle zu. Mäuse, die nach Immunisierung nur geringe Mengen von IgE-Antikörpern bildeten, konnten durch immunsuppressive Behandlung zur Produktion großer IgE-Mengen angeregt werden (14). Bei Patienten mit Immundefekten im T-Zellbereich (Wiskott-Aldrich-Syndrom, Morbus Hodgkin), nach viralen Infekten oder nach Ganzkörperbestrahlung wurden IgE-

Anstiege beobachtet (160). Dementsprechend stellen im Gegensatz zur normalen, isotypischen Regulation im Sinne einer Hemmung der IgE-Antwort die überhöhten IgE-Bildungsraten von Atopikern auf Allergene einen Zustand partieller Immundefizienz mit verminderter Suppression dar.

Die folgende Tabelle zeigt die wesentlichen, IgE regulierenden Faktoren.

Tabelle 50. Faktoren mit Einfluß auf die IgE-Bildung

A. Patienten-bedingt:	B. Antigen-bedingt:
- "Immune-response"-Gene (spezifische IgE-Antwort)	- Antigenstruktur
- "IgE-level"-Gen(e) (Gesamt-IgE-Spiegel)	- Antigendosis
- Zelluläre Interaktionen (T-/B-Lymphozyten, Monozyten)	- Frequenz der Antigengabe
	- Ort der Verabreichung
	- Adjuvantien (Al(OH) ₃ , B.pertussis, komplettes und inkomplettes Freund'sches Adjuvans)

Da die IgE-Synthese auf die Mitwirkung von T-Helferzellen angewiesen ist, vermögen wohl thymusabhängige, nicht aber thymusunabhängige Antigene die Bildung von IgE-Antikörpern auszulösen. Begünstigend wirkt dabei der wiederholte Kontakt mit kleinen Mengen Antigen (155), im Gegensatz zur Immunisierung mit hohen Dosen. Allergene sind meist globuläre Polypeptide mit einem Molekulargewicht zwischen 20.000 und 40.000 Dalton (D) (Ausnahmen sind Mellitin mit 2.800 D und Albumin mit 65.000 D). Über die strukturellen Merkmale, die die Eigenschaft der "allergenischen Potenz" bedingen, ist wenig bekannt. Adjuvantien haben unterschiedlichen Einfluß: Aluminiumhydroxid oder B. pertussis Extrakt haben IgE-steigernde Wirkung, während komplettes Freund'sches Adjuvans (in Wasser-in-Öl-Emulsion aufgenommene abgetötete Tuberkelbakterien) hemmenden Einfluß hat (118).

Die von Kishimoto et al. (81) gemachte Beobachtung, daß eine Immunisierung mit Dinitrophenol (DNP)-konjugierten Mykobakterien zur Induktion von DNP-reaktiven IgE-spezifischen T-Suppressorzellen führt, kann zur Erklärung der hemmenden Wirkung von Freund'schem Adjuvans beitragen.

Unter den verschiedenen, möglicherweise bei der Regulation der IgE-Bildung beteiligten Zellen haben Monozyten eine sowohl supprimierende als auch fördernde Funktion. Hohe Monozytenzahlen in Lymphozytenkulturen hemmen die Immunglobulinproduktion nach Stimulation mit B-Zellaktivatoren. Andererseits sind auch bei völligem Fehlen von Monozyten die Antikörperspiegel erniedrigt (50). Bei Patienten mit Morbus Crohn wurden überhöhte Immunglobulinspiegel beschrieben als Folge eines Regulationsdefektes im Bereich der Monozyten (verminderte Monozyten-vermittelte Suppression im Vergleich zu Normalpersonen) (37). Romagnani et al. (123) fanden ein Abfallen der IgE-Konzentrationen in jenen Zellkulturen, in denen nach Abtrennung weniger als 5 % Monozyten verblieben waren. Boltz und Mitarbeiter beobachteten parallel zu höheren Serum-IgE-Werten eine Zunahme der FC ϵ -Rezeptordichte auf Monozyten (13). Möglicherweise wird dadurch die Phagozytosefunktion von Monozyten bei Parasitosen verbessert sowie die Regulation IgE-vermittelter allergischer Reaktionen.

In unseren Versuchen beobachteten wir ein Absinken der IgE-Spiegel (schwach bei PWM, deutlich bei Stimulation mit Hausstaubmilbenextrakt) als Hinweis auf eine fördernde Rolle normaler Monozyten Spiegel bei der IgE-Synthese in vitro.

Erste Hinweise auf die zentrale Rolle von T-Lymphozyten bei der Regulation der IgE-Bildung lieferten Tada et al. (149), die über eine Steigerung laufender IgE-Antworten durch Antilymphozytenserum und Ganzkörperbestrahlung berichteten. Die Kontrollfunktion von T-Zellen bei der IgE-Produktion läßt der Fallbericht eines fünf Monate alten Kindes vermuten, das bei Thymusaplasie eine defekte zellvermittelte

Immunität und hohe IgE-Werte bei normalen IgG-Spiegeln aufwies (80). Erhöhtes IgE wurde ebenfalls bei Patienten nach Knochenmarkstransplantation (wobei eine T-Suppressorzellschwäche auftritt) beobachtet (47). Strannegard et al. (145) sowie Canonica und Mitarbeiter (25) lenkten das Interesse auf eine mögliche T-Suppressorzellschwäche als Ursache für erhöhtes IgE bei atopischen Erkrankungen. T-Helferzellen und T-Suppressorzellen (definierbar über Fc-Rezeptoren für IgM bzw. IgG, oder über monoklonale Antikörper) wirken unter gegenseitiger Beeinflussung auf die IgE-Antwort. Peters und Mitarbeiter (106) vermuteten dabei einen unspezifischen und einen Antigen-spezifischen Suppressormechanismus, da einerseits Suppressorzellen in polyklonal stimulierten Lymphozytenkulturen eine Antikörperproduktion unspezifisch unterdrückten und andererseits in PWM + Antigen stimulierten Kulturen eine Hemmung der spezifischen Antikörperantwort bei intakter polyklonaler Antwort stattfand, wenn spezifisch (z. B. durch in vivo Immunisierung mit jenem Antigen) präaktivierte Helferzellen (= "suppressor inducer" Zellen) vorhanden waren. T-Helferzellen eines Patienten mit extrem hohen IgE-Spiegeln bei Sezary-Syndrom führten in Lymphozytenkulturen von Normalpersonen zu einem starken Anstieg der zuvor minimalen IgE-Werte (95). Dieser Nachweis IgE-spezifischer T-Helferzellen paßte gut zu der Beobachtung, daß sich bei mit DNP-konjugierten Mykobakterien immunisierten Mäusen Suppressorzellen gegen die IgE-Antwort auf DNP entwickelten, ohne Unterdrückung der IgG-Bildung (81). Das Fehlen einer IgE-Antwort auf Inhalations- oder Nahrungsmittelantigene bei gesunden Erwachsenen bezeugt nicht ein Unvermögen zur IgE-Produktion, sondern einen immunregulatorischen Mechanismus mit selektiver Suppression dieser Antikörperklasse. Nach Jarrett und Mitarbeitern (69) können von der Mutter stammendes IgG- und Antigenexposition in frühen Lebensabschnitten eine spezifische IgE-Antwort unterdrücken, wobei beim Neugeborenen

der Übergang von der passiven (= mütterliches spezifisches IgG) zur aktiven (bei Antigenkontakt) Suppression einer unerwünschten IgE-Antwort stattfindet.

Weitergehende Untersuchungen bezüglich der geforderten, IgE-spezifischen T-Helfer- und T-Suppressorzellen (81, 83, 146, 139) wurden durch die Entdeckung von $\text{Fc}\epsilon$ -Rezeptoren ($\text{Fc}\epsilon\text{R}$) auf Lymphozyten durch Spiegelberg (136) möglich. Zusammen mit Gonzalez-Molina (51) beobachtete er einen $\text{Fc}\epsilon\text{R}^+$ Lymphozytenanteil von 4 % bei normalen Versuchspersonen. Yodoi und Ishizaka (166) zeigten, daß bei mit Kreuzkrautextrakten (= "ragweed") sensibilisierten Atopikern und bei *Nippostrongylus brasiliensis* (Nb) infizierten Ratten (welche daraufhin höhere IgE-Antworten entwickelten) B- und T-Lymphozyten $\text{Fc}\epsilon$ -Rezeptoren trugen. Die Arbeitsgruppe um Katz fand, daß die über IgE zur $\text{Fc}\epsilon$ -Rezeptorexpression angeregten Lymphozyten Regulatorsubstanzen produzierten. Wie generell bei der Induktion von $\text{Fc}\epsilon$ -Rezeptoren beobachtet, hängt auch die Produktion des sogenannten "suppressive factor of allergy" (SFA) von einer initialen Interaktion von B-Zellen mit IgE und einer dadurch bedingten Freisetzung von EIR_B ab. Nach Katz (89) wirken SFA und EFA (= "enhancing factor of allergy") antigen- und antikörperklassenspezifisch auf T-Zellen, wobei der SFA im Mäusemodell Lyt-1^+ Zellen zur Produktion von SEM ("suppressor effector molecule") stimuliert. Die eigentlichen Zielzellen für EFA und EEM sowie für SFA und SEM sind $\text{Fc}\epsilon\text{R}^+$ B-Lymphozyten (90), deren weitere Expansion und IgE-Rezeptorexpression durch die letzteren beiden Faktoren verhindert wird. Eine Schlüsselstellung im Netzwerk der IgE-Regulation haben also nach Katz (78) das Erscheinen von $\text{Fc}\epsilon$ -Rezeptoren auf B- und T-Lymphozyten und die Tatsache, daß diese $\text{Fc}\epsilon$ -Rezeptorexpression durch die Isotyp-spezifischen Mediatoren SFA und EFA verändert werden kann. Als

Beispiel für die Regulatorfunktion von $\text{Fc}\epsilon\text{R}^+$ -Lymphozyten berichtet er über PWM stimulierte Lymphozytenkulturen (mit nachgewiesenen $\text{Fc}\epsilon\text{R}^+$ - und $\text{Fc}\gamma\text{R}^+$ -Zellen), in denen die Zugabe von SFA (von humanem T-Zellhybridom) zu einem selektiven Abfallen der IgE-Spiegel bei unbeeinflussten IgG-Werten führte. SFA und EFA haben im Gegensatz zu den Effektormolekülen SEM und EEM keine IgE-bindenden Eigenschaften.

Ishizaka und Mitarbeiter (166) fanden in Experimenten mit Nb-infizierten Ratten zwei T-Zellfaktoren mit Affinität für IgE und supprimierendem bzw. verstärkendem Einfluß auf die IgE-Antwort. Bei etwa ähnlichem Molekulargewicht bei der Faktoren besitzt der (von dieser Arbeitsgruppe so bezeichnete) "IgE-potentiating factor" über Glykosylreste Affinität für "Lentil-Lectin" und ConA, während der "IgE-suppressive factor" diese Eigenschaften nicht hat (67). Auch in verschiedenen anderen Experimenten (z. B. Immunisierung mit Ovalbumin, Ovalbumin mit Freund'schem Adjuvans) ließ sich bei gesteigerter IgE-Antwort stets der "IgE-potentiating factor" nachweisen, bei selektiver Suppression der IgE-Synthese der "IgE-suppressive factor". Aufgrund von Strukturähnlichkeiten vermutete Ishizaka eine gemeinsame Vorläufersubstanz. "IgE potentiating factor" produzierende T-Zellen konnten durch Glykosylierungs-hemmende Substanzen (Tunicamycin, Phospholiposeinhibitoren wie Lipomodulin) zur "IgE-suppressive factor"-Produktion umgepolt werden. Umgekehrt produzierten mit ConA stimulierte T-Zellen, wenn inkubiert mit IgE und einem Phospholiposeaktivator (z. B. Melittin oder monoklonale Antikörper gegen Lipomodulin) vermehrt "IgE-potentiating factor" (168). Somit wird je nach Einfluß der Umgebung (über GEF = "glycosylation enhancing factor" oder GIF = "glycosylation inhibiting factor") von denselben T-Zellen entweder der "IgE-potentiating factor" oder dessen nicht glykosylierte Variante (= "IgE suppressive

factor") produziert (67). Katona (77) beobachtete, daß nahezu alle B-Zellen von Nb-infizierten Ratten $Fc\epsilon$ -Rezeptoren trugen und daß das Oberflächen-IgE auf den meisten B-Zellen in vivo gebundenem, mit Säure dissozilierbarem freiem IgE entsprach und nicht membraneigenem IgE. Möglicherweise bedeutet das, daß IgE-bindende T-Zellfaktoren (z. B. "IgE suppressive" und "enhancing factor") zur Kontrolle der IgE-Synthese/-Sekretion auf $Fc\epsilon R^+$ B-Zellen geleast werden können über Vermittlung des eben an diese Rezeptoren gebundenen Serum-IgE's.

In Zusammenschau der Ergebnisse verschiedener Arbeitsgruppen kristallisieren sich somit verschiedene mögliche Ebenen der isotypischen Regulation einer IgE-Antwort heraus:

1. Die Interaktion zwischen T- und B-Zellen, bei der nicht-IgE-bindende Regulatorfaktoren (z. B. SFA und EFA) gebildet werden.
2. "IgE potentiating factor" und "IgE suppressive factor" (beide IgE-bindend) von T-Zellen, die die IgE-Produktion von $Fc\epsilon R^+$ Zellen regulieren.
3. Beeinflussung der unter 2. genannten Faktoren über "glycosylation regulating factors" (GEF und GIF).

4.2.3. Modelle für in vitro IgE-Sekretion

Innerhalb der in Kultur gehaltenen peripheren Blutlymphozyten sind gewöhnlich nur sehr wenige IgE-tragende B-Zellen zur Transformation in IgE-produzierende Plasmazellen fähig (ca. 3 - 9 Zellen/ 10^5 Zellen (62)).

Während einer Kulturdauer von 3 - 7 Tagen sind dementsprechend nur IgE-Mengen im Pikogrammbereich nachweisbar. Eine erste Fehlerquelle stellen Anti-idiotyp-Kreuzreaktionen der zum IgE-Nachweis verwendeten Anti-IgE-Antikörper dar, die mit Epitopen auf Fab-Fragmenten anderer Immunglobulin-klassen reagieren und somit falsch hohe IgE-Messungen bedingen. Dieses Phänomen könnte die später erwähnten, z. T. widersprüchlichen Berichte über die Fähigkeit von PWM zur IgE-Synthesestimulation erklären (Kreuzreaktion mit dem in hoher Konzentration vorliegenden IgG?). Wir verwendeten bei unserem IgE-Nachweis Anti-IgE-Antikörper, die durch Immunisierung mit Fc γ -Ketten eines IgE-Myéloms gewonnen wurden. Damit dürften wir diese Fehlermöglichkeit umgangen haben. Eine weitere Schwierigkeit stellte sich in dem Bemühen, aus den gleichen Kulturen Thymidineinbauraten und IgE-Spiegel zu messen. Es galt zunächst die günstigste Inkubationsdauer zu finden. Versuche von Senner im allergologischen Labor unserer Klinik hatten ein kontinuierliches Absinken und am achten Tag ein erneutes Ansteigen der Thymidineinbauraten in seinen Lymphozytenkulturen gezeigt. Zur Kinetik der IgE-Spiegel fand er eine Zunahme parallel zur Inkubationsdauer, die nach 5 Tagen einen nur noch flachen Anstieg zeigte. Auch andere Autoren geben diesen IgE-Anstieg bei längerer Inkubation an, allerdings beschrieb Patterson (104) höchste Werte nach 3 Tagen, während andere diese z. B. nach 7 Tagen registrierten (153). Die von uns gewählte Kulturdauer von 5 Tagen ermöglichte auch eine Unterscheidung von Atopikern und Kontrollen. Schwer überschaubar ist außerdem die Ausgangssituation der kultivierten peripheren Blutlymphozyten bezüglich des Anteils an präformiertem IgE in der Kultur. Trotz gründlicher Waschvorgänge kann bei Atopikern zellgebundenes oder intrazelluläres IgE verbleiben und später freigesetzt werden. Wir sprechen deshalb bei unseren Ergebnissen von "IgE-

Sekretion", da wir in diesen Experimenten keine Aussage über eine echte eventuelle Neuproduktion machen können. Der Einsatz von Proteinsynthesehemmern (z. B. Cycloheximid) wurde versucht, ermöglicht aber nicht immer genaue Aussagen über eventuell synthetisiertes IgE, da hiermit kultivierte Zellen angegriffen werden mit eventueller Beeinflussung auch des IgE-Katabolismus (Untersuchungen von B. Kunze und H. Josupeit in unserem Labor).

Unsere Untersuchungen ergaben eine signifikante positive Korrelation zwischen Plasma-IgE und Eosinophilenanteil bei den 8 untersuchten Atopikern. Die drei Atopiepatienten mit den höchsten Eosinophilenwerten (Patienten Nr. 2, 10, 21) hatten sehr hohe Plasma-IgE-Werte und eine starke Krankheitsausprägung (atopisches Ekzem gekoppelt mit anderen atopischen Erkrankungen). Demgegenüber wiesen die beiden Insektengiftallergiker (Patienten Nr. 15, 23) - im erscheinungsfreien Intervall und unter Hyposensibilisierungsbehandlung - niedere Plasma-IgE-Spiegel und Eosinophilenzahlen auf.

Die Auflistung der spontanen in vitro IgE-Sekretion erbrachte einen signifikanten Unterschied zwischen der Kontrollgruppe und den Atopikern. Bei den Vergleichspersonen waren nicht nur die Spannweiten zwischen IgE_{max} und IgE_{min} geringer, sondern es entsprachen auch die niederen, z. T. nicht sicher meßbaren spontanen in vitro IgE-Werte der in vivo Situation (niederes Plasma-IgE). Umgekehrt spiegelten die z. T. hohen in vitro IgE-Spiegel bei Atopikern die in vivo IgE-Konzentrationen wider, wobei interessanterweise in Kulturen von vier Atopikern mit akuter Krankheitsverschlechterung sehr hohe IgE-Werte beobachtet wurden. Wir fanden eine positive Korrelation zwischen Plasma-IgE und spon-

tanem in vitro IgE, ähnlich wie Romagnani (122) und Ring und Senner (119). Andere Arbeitsgruppen, z. B. Fiser et al. (43) sahen einen solchen Zusammenhang nicht. Kraemer et al. (83) zeigten, daß B-Zellen von Patienten mit Hyper-IgE-Syndrom aktiv große Mengen von IgE in vitro synthetisierten; dies war durch Zugabe allogener, normaler T-Suppressorzellen zu unterdrücken. Diese spontane IgE-Produktion in vitro ließ sich weiterhin einerseits mit Überständen von T-Zellen jener Patienten in normalen B-Zellkulturen reproduzieren, konnte andererseits aber über Trypsin und Neuraminidase (Zerstörung des postulierten IgE-isotypspezifischen Helferfaktors) sowie durch Cycloheximid und Tunicamycin (Proteinsyntheseblocker) verhindert werden (128). Gegen eine Verallgemeinerung der aus diesem Beispiel entstandenen Theorie einer in vitro Neusynthese von IgE sprachen sich Naclerio und Mitarbeiter (100) aus. Diese Arbeitsgruppe fand nach 7-tägiger Kultur in den Überständen von Atopikerlymphozyten ebenso viel IgE wie in Kulturen von Zellen, die zuvor mehrmals eingefroren und aufgetaut oder anfangs kurz mit 3,7 pH Puffer behandelt wurden. Ähnlich wie Sampson und Buckley (126) hielten sie das gemessene IgE nicht für neu synthetisiert, sondern für präformiert und von den Lymphozyten langsam freigesetzt. Sarfate et al. (127) räumten ein, daß neben den insgesamt schwierig zu messenden geringen IgE-Konzentrationen auch eine passive Freisetzung von zellgebundenem und intrazellulär gelagertem, präformiertem IgE zu oft widersprüchlichen Ergebnissen einzelner Arbeitsgruppen über eine in vitro IgE-Synthese führten. Allerdings hielten sie die selektive Steigerung der spontanen IgE-Sekretion in ihren Atopikerkulturen (bei normalen Spiegeln von IgG, IgM und IgA) durch Überstände von mit IgE präinkubierten neonatalen Lymphozyten für den Ausdruck einer "de novo" IgE-Synthese. Die "spontane" IgE-Sekretion in unstimulierten Atopikerkulturen stammt nach Meinung vieler Autoren (100, 127, 146, 61) von in vivo

präaktivierten Lymphozyten. Ein Ausdruck dafür ist die von uns gefundene positive Korrelation zwischen Plasma-IgE und spontaner in vitro IgE-Sekretion bei Atopikern.

Im Gegensatz zu dem bekannten steigernden Effekt von Mitogenen auf die Antikörperbildung anderer Ig-Klassen führte der Einsatz von PWM oder PHA bei den meisten Atopikerkulturen zu niedrigeren IgE-Spiegeln als in den zugehörigen Leerkulturen. Bei den Normalpersonen war kein klarer Effekt für PWM oder PHA auf die z. T. nicht mehr meßbaren IgE-Spiegel nachzuweisen. Die fehlende Auslösung einer IgE-Synthese durch PWM bei unseren Kontrollpersonen (PWM besitzt als polyklonaler B-Zellaktivator IgG-, IgM- und IgA-steigernde Wirkung) entspricht Berichten anderer Autoren (128, 122, 43). Entgegengesetzte Beobachtungen liegen allerdings auch vor (171). Für Atopiker gibt es ebenfalls Angaben über IgE-Steigerungen (171, 129) und -Hemmungen (123, 43, 95). Ricci et al. (115) meinten, daß die in Atopikerkulturen IgE produzierenden B-Lymphozyten zuvor in vivo aktiviert waren (Allergenexposition/Aktivität des atopischen Ekzems) und nur in negativer Weise über in vitro Signale (Lektine wie z. B. PWM, Allergene, anti-IgE-Antikörper und Suppressorsignale) beeinflusst werden könnten. Mitsuya et al. (95) definierten in Übereinstimmung mit Saxon et al. (129) zwei funktionell verschiedene B-Zelltypen:

- große lymphoblastoide Zellen (vermutlich in vivo präaktiviert) mit spontaner in vitro IgE-Synthese, unabhängig von T-Zellen und PWM (das hier im Gegenteil hemmende Wirkung hatte),
- B-Zellen, die auf PWM unter Mitwirkung von Helfer-T-Zellen mit IgE-Produktion reagierten.

Somit würde nur ein Teil der IgE-B-Zellen auf die T-Zell-vermittelte PWM-Wirkung ansprechen. Das breite Spektrum der IgG-Antworten auf PWM-Stimulation schreiben Rosenkoetter et al. (125) Unterschieden in der Suppressoraktivität von T 8⁺-Zellen zu, was zu "high responders" und "low responders" führt. Eine plausible Erklärung für die unterschiedlichen Ergebnisberichte zur PWM-induzierten IgE-Bildung könnte in der z. T. mangelnden Spezifität der zur IgE-Messung verwendeten anti-IgE-Antikörper liegen. Kreuzreaktionen mit IgG, beschrieben von Spiegelberg (138) können zu Störfaktoren werden, wenn niedere IgE-Werte im Pikogrammbereich in Gegenwart von großen IgG-Mengen (z. B. nach PWM-Stimulation) gemessen werden.

Gemäß der häufig anzutreffenden Sensibilisierung von Atopikern gegen Gräserpollen, Hausstaubmilben oder Katzenepithel könnte man einen IgE-steigernden Effekt dieser Allergene in Lymphozytenkulturen erwarten. Dies ließ sich in unseren Experimenten nicht feststellen. Wir fanden im Gegenteil sogar einige Kulturansätze, in denen Allergene zur Abnahme der IgE-Sekretion gegenüber den Leerkulturen geführt hatten. Für die Gesamtheit der Atopiker ergab sich jedoch kein eindeutiger Trend. Der Versuch, die spontane IgE-Sekretion von in vivo präaktivierten B-Zellen in vitro durch Allergene zu beeinflussen, führte zu keiner weiteren IgE-Steigerung, sondern unter Umständen sogar zur Hemmung (115, 124). Ricci (115) hatte ja bereits vermutet, daß die spontane IgE-Produktion in vitro in Beziehung steht zur Allergenexposition in vivo und vielleicht zur Zahl der Allergene, gegen die eine Sensibilisierung besteht. Noch ist aber zu wenig über die immunogenen Eigenschaften von Allergenen bekannt, um deren Wirkung auf die IgE-Antwort genau zu erklären.

4.2.4. Einfluß von Suppressor-Zellen auf das in vitro IgE aus Kulturen von Atopikern und Normalpersonen

Auch nach Abtrennung der Suppressor-Zellen fanden sich signifikant höhere spontane IgE-Sekretionsraten in den Atopikerkulturen gegenüber der Kontrollgruppe. Allerdings waren jetzt auch in den meisten Leerkulturen der Normalpersonen häufiger meßbare IgE-Spiegel aufgetreten.

Interessante Unterschiede bewirkte die Suppressorzellabtrennung auf die Stimulation von Atopikerlymphozyten mit PWM und PHA. Hatten diese Mitogene bei der Gesamtfraktion noch einen eher hemmenden Einfluß, so stiegen in Kulturen ohne T-Suppressorzellen im Durchschnitt die IgE-Spiegel an. Der Vergleich mit den Kontrollkulturen soll unter Vorbehalt erfolgen, da in diesen wegen der zum Teil unter der Nachweisgrenze gelegenen IgE-Spiegel Veränderungen leicht verzerrt beurteilt werden können. Immerhin war bei den Kontrollpersonen kein hemmender Einfluß der Mitogene auf die Gesamtpopulation festzustellen. Im Durchschnitt stiegen auch hier nach T 8⁺-Zellabtrennung die IgE-Spiegel. Wahrscheinlich läuft der Einfluß von PWM auf die Ig-Synthese über Mediatorsubstanzen, die von regulierenden Lymphozyten freigesetzt werden. Rosenkoetter und Mitarbeiter (125) fanden im Vergleich von "high responders" und "low responders" auf PWM, daß nicht Unterschiede im Bereich der T 4⁺-Helferlymphozyten sondern eine verschiedene Aktivität der jeweiligen T 8⁺-Suppressorzellen verantwortlich war für die hohen oder niedrigen IgG-Antworten auf PWM. Unsere Ergebnisse deuten darauf hin, daß auch bei der IgE-Antwort auf PWM deren Regulation über T-Suppressorzellen laufen könnte.

Allergene in der von uns eingesetzten relativ hohen Konzentration führten bei Atopikerkulturen eher zu Hemmungen der

IgE-Sekretion, ausgeprägter nach Suppressorzellabtrennung. Auf die Kontrollkulturen hatten Allergene keinen Einfluß.

Vela und Mitarbeiter (156) fanden in Allergen-stimulierten Lymphozytenkulturen von Atopikern keinen Anstieg der IgE-Antwort nach T-(=Suppressor)-Zellabtrennung. Sie interpretierten dies als Hinweis auf einen Defekt innerhalb des T-Zell-vermittelten Suppressormechanismus bei Atopikern, wobei sich die TX -Zellspiegel der untersuchten Atopiepatienten nicht von jenen der Kontrollgruppe unterschieden. Gurbindo et al. (55) berichten demgegenüber von deutlichen IgE-Anstiegen nach $T\ 8^+$ -Zelldepletierung (über Komplement-vermittelte Lyse) in Kulturen von Normalpersonen und "normoproducer" (weniger als 900 pg IgE/ml/ 10^7 Zellen)-Allergikern. In Zellkulturen von "hyperproducer"-Allergikern hatte die T 8-Zellabtrennung keinen Einfluß.

4.2.5. Einfluß von Histamin auf die IgE-Sekretion

In unseren Atopikerkulturen ließ sich keine Histamin-induzierbare Suppression der IgE-Bildung nachweisen. In der Atopikergruppe hatten ebenso viele Kulturen mit einem Absinken wie mit einer Zunahme der IgE-Sekretion auf den Zusatz von Histamin reagiert. Bei den Normalpersonen waren etwas häufiger IgE-Abnahmen aufgetreten. Die Arbeitsgruppen um Beer (9) und Martinez (92) hatten bei Atopikern sowohl einen signifikant niedrigeren Prozentsatz an Histamin- H_2 -Rezeptor-tragenden T-Lymphozyten festgestellt wie auch ein stark abgeschwächtes Histamin-induzierbares Suppressorzellsystem. Wir interpretierten unsere Ergebnisse ebenfalls in diesem Sinne.

Nach Suppressorzellabtrennung ließ sich in den Atopikerkulturen ein eher hemmender Einfluß von Histamin gegenüber dem ausgeglichenen Bild in der Kontrollgruppe festhalten. Gemäß dem postulierten fehlenden oder stark verminderten Histamin-induzierbaren Suppressormechanismus bei Atopikern sollte bei Fehlen von $T\ 8^+$ -Zellen kein positiver Effekt erfolgen. Über den von uns häufig zusätzlich beobachteten negativen Einfluß läßt sich allerdings nur spekulieren, daß dieser Effekt eventuell einer unspezifischen in vitro Beeinträchtigung der in vivo präaktivierten IgE-B-Lymphozyten darstellt.

Zusammenfassend läßt sich sagen, daß der Zusatz von Histamin bei Anwesenheit von Suppressorlymphozyten in Atopikerkulturen zu keiner wesentlichen Hemmung führte, während bei Normalpersonen das häufigere Absinken der IgE-Werte im Verhältnis zur alleinigen PWM-Stimulation auf eine Histamin-induzierbare Suppression hindeutete. Bei Fehlen der $T\ 8^+$ -Zellen zeigte sich dementsprechend kein Histamineffekt in den Kontrollkulturen, während in den Zellansätzen der Atopiker sogar eher ein Absinken des IgE beobachtet wurde.

Unsere Versuche liefern somit Hinweise dafür, daß - wahrscheinlich abhängig von dem in vivo Aktivierungsgrad der Atopikerlymphozyten - bei Atopikern in vitro eine spontane IgE-Sekretion zu fassen ist, die durch Mitogene negativ beeinflusst wird (eventuell über T-Zellvermittlung, da nach Suppressorzellabtrennung diese Hemmung fehlte). Allergene hatten in unseren Experimenten nicht den entsprechend dem höheren Sensibilisierungsgrad von Atopikern erwarteten IgE-steigernden Effekt, sondern wirkten wohl unabhängig von den Suppressorlymphozyten negativ auf die aktiven IgE-B-Zellen in vitro, was z. B. konzentrationsbedingt sein könnte. Auch in den Kontrollkulturen stieg

nach Suppressorzellabtrennung die spontane IgE-Sekretion als Ausdruck dafür, daß durchaus - wenn auch in ver-schwindend geringer Menge - bei gesunden Probanden IgE-B-Zellen (normalerweise supprimiert) vorhanden sind. Auf Mitogene reagierten diese erst nach Suppressorzellabtrennung zum Teil mit IgE-Zunahmen, Allergene beeinflussten die minimalen IgE-Werte nicht. Histamin soll eine modulierende Wirkung auf Suppressorzellen besitzen; dementsprechend versuchten wir, durch Suppressorzellabtrennung Unterschiede im Histamineffekt auf die IgE-Sekretion hervorzurufen. In den Kontrollkulturen ergaben sich Hinweise auf eine Histamin-induzierbare Suppression, das inkonstante Verhalten in den Atopikerkulturen läßt eine gestörte Funktion im Histamin-/Suppressorzell-abhängigen Hemmungsmechanismus bei einigen Patienten vermuten.

4.2.6. In vitro IgE-Sekretion und Plasma-IgE bei Lepra

Das Vorliegen deutlich erhöhter IgE-Werte im Plasma korrelierte mit erhöhten spontanen IgE-Sekretionsraten in den Zellkulturen der 8 untersuchten Leprapatienten, ähnlich den Befunden bei Atopikern. Dies weist auf einen Defekt in der Immunregulation bei dieser Krankheit hin. Das Unvermögen von Leprapatienten, auf eine Leprominprovokation zu antworten, lenkte schon früh den Blick auf möglicherweise veränderte Suppressormechanismen (wobei zwischen den verschiedenen zellulären und humoralen Funktionen unterschieden werden muß). Reinherz (114) vermutet eine zu hohe Zahl an aktivierten Suppressorzellen als Ursache für die beobachtete Anergie bei Lepra lepromatosa, vielleicht ebenso auch bei Tuberkulose. Die Arbeitsgruppe um Rea (113) berichtet über zum Teil widersprüchliche Ergebnisse ihrer Vorgänger. So haben drei Arbeitsgruppen (11, 94, 3)

in Versuchen mit *Lepra lepromatosa*-Patienten Suppressorzellaktivitäten gefunden, zwei (101, 142) nicht. Bullock et al. (20) entdeckten bei Versuchen zum Problem "Hypergammaglobulinämie bei Lepra", daß $T\ 4^+$ -Helferzellen von Lepra-patienten in Kontrollkulturen nicht zu Erhöhung des IgG führten und daß $T\ 8^+$ -Suppressorzellen von Normalpersonen die IgG-Antwort von Leprazellen auf normale Werte reduzierten. Sie schlossen daraus auf eine unspezifische Suppressorzellschwäche bei Leprapatienten. Unsere Ergebnisse weisen dabei auf einen möglichen Defekt auch im IgE-regulierenden Suppressorzellmechanismus hin.

4.2.7. Ausblick

Die zentrale Rolle von T-Lymphozyten bei der Regulation der IgE-Antwort *in vitro* und *in vivo* wird nicht mehr angezweifelt. Eine genauere Definition und Isolierungsmöglichkeit relevanter Subpopulationen (z. B. Isotyp-spezifischer Suppressorzellen innerhalb der von uns abgetrennten Suppressorgesamtpopulation) stellt die Voraussetzung für weitere Schritte zu einer Isotyp-spezifischen Suppression der IgE-Bildung dar. Unsere Untersuchungen zeigen, daß diese Subpopulation möglicherweise in dem Pool der $T\ 8$ -Zellen enthalten ist. IgE-regulierende T-Zellen mit IgE-Rezeptoren und Freisetzung von "IgE binding"-Faktoren bilden den Zugang (eventuell über monoklonale anti-Fc ϵ -Rezeptor-Antikörper) zur molekularen und genetischen Charakterisierung eines IgE-spezifischen Suppressorfaktors, der vielleicht einmal zur Prävention oder Behandlung von IgE-vermittelten allergischen Erkrankungen verabreicht werden kann. Sollte die Umpolbarkeit der von Ishizaka beschriebenen "IgE-binding factors" durch GEF und GIF auch *in vivo* funktionieren, so könnten Versuche mit GIF-Verabreichung (zur *in vivo* Suppression der IgE-Antwort) einen Schritt auf dieses Therapieziel hin darstellen.

5. ZUSAMMENFASSUNG

In der vorliegenden Arbeit wurden in Kultur gehaltene periphere mononukleäre Zellen von Atopikern und Kontrollpersonen untersucht. Die Auswirkungen der Stimulation mit Allergenen, Mitogenen und Histamin sowie der Einfluß von Monozyten und insbesondere T-Suppressorlymphozyten auf die Zellvermehrungsraten (gemessen über Einbau von radioaktivem Thymidin) und die in vitro IgE-Sekretion wurden bestimmt. Die Plasma-IgE-Spiegel und Eosinophilenanteile im Differentialblutbild wurden in die Beurteilung mit einbezogen. Schließlich wurden in vitro IgE-Sekretion und Plasma-IgE von Patienten mit Lepra lepromatosa bestimmt.

Im LTT fanden sich nach Stimulation mit Mitogenen und Allergenen keine Unterschiede zwischen Atopikern und Normalpersonen, wobei nach Allergengabe in beiden Gruppen Hemmungen auftraten. Die Zugabe von Histamin wirkte nur in den Kontrollgruppen eindeutig hemmend, was für einen intakten Histamin-induzierbaren Suppressormechanismus bei gesunden Probanden im Gegensatz zu Atopikern spricht. Die Suppressorzelldepletierung führte zu vermindertem Ansprechen auf PHA in der Kontrollgruppe, auf die Allergenwirkung ergab sich kein Einfluß.

Die spontane in vitro IgE-Sekretion war bei Atopikern signifikant höher als bei Kontrollen und korrelierte positiv mit dem Plasma-IgE. Ebenso waren die Eosinophilenwerte der Atopiker signifikant höher bei positiver, signifikanter Korrelation zu Plasma-IgE und Schweregrad der Erkrankung. Die in vitro IgE-Sekretion vermutlich in vivo präaktivierter Lymphozyten von Atopikern wurde durch Mitogene eher negativ beeinflusst, durch Allergene und durch Histamin kaum verändert.

Normalpersonen zeigten dagegen eine Histamin-induzierte Suppression. Nach Suppressorzellabtrennung stieg die spontane IgE-Sekretion bei Atopikern und bei Normalpersonen. Dabei verschwand der hemmende Effekt von PWM und PHA auf Atopikerlymphozyten. Durch Allergene war die in vitro IgE-Sekretion nicht zu steigern. Hohe in vitro IgE-Sekretion und Plasma-IgE bei Patienten mit Lepra lepromatosa könnten ebenfalls Ausdruck einer gestörten T-Zellregulation sein.

6. LITERATURVERZEICHNIS

- (1) ABDERHALDEN R.
Grundriß der Allergie
B. Schwabe u. Co.-Verlag, Basel (1950)
- (2) ATKINS P.
Histologic studies of human skin test responses to
ragweed compound 48/80 and histamine.
J. of Allergy Clin. Immunol. 51: 263 - 267 (1973)
- (3) BACH M.A., CHATENAUD L., WALLACH D., TUY F.D.P.,
COTTENOT F.
Studies on T cell subsets and functions in leprosy.
Clin. exp. Immunol. 44: 491 - 496 (1981)
- (4) BAILLOU G. DE
Labyrinthi medici extricati sive methodus
vitandorum errorum qui in praxi occurrunt.
Hrsg. Th. Bonet, Genf (1687)
- (5) BAIN B.
Tritiated-Thymidine uptake in mixed leucocyte cultures:
Effect of specific activity and exposure time.
Clin. Exp. Immunol. 6: 255 - 262 (1970)
- (6) BAKER G., BYROM N.A., IRANI M.S.
Stress, cortisol and lymphocyte subpopulations
Lancet 8376: 574 (1984)

- (7) BARBEE R.
Distribution of IgE in a community population sample: correlations with age, sex and allergen skin test reactivity.
J. Allergy Clin. Immunol. 68: 106 - 111 (1981)
- (8) BARTELMEZ S.H., DODGE W.H., MAHMOUD A.A.F.
Stimulation of eosinophil production in vitro by eosinophilopoetin and spleen-cell-derived eosinophil growth-stimulating factor.
Blood 56: 706 - 711 (1980)
- (9) BEER D.J., OSBAND M., MC CAFFREY R., SOTER N.
Abnormal histamin-induced suppressor-cell function in atopic subjects.
N. Engl. J. Med. 306: 454 - 458 (1982)
- (10) BENNICH H., ISHIZAKA K., JOHANSSON S.G.O., ROWE D.S., STANWORTH D.R., TERRY W.D.
Immunoglobulin E, a new class of human immunoglobulin.
Bulletin of the World Health Organization 38: 151
- (11) BJUNE G.
In vitro lymphocyte stimulation in leprosy: simultaneous stimulation with Mycobacterium leprae antigens and phytohaemagglutinin.
Clin. exp. Immunol. 36: 479 - 482 (1979)
- (12) BLACK P.L., MARSH D.G.
Correlation between lymphocyte responses and immediate hypersensitivity to purified allergens.
J. Allergy Clin. Immunol. 66: 394 - 401 (1980)

- (13) BOLTZT N., PLUMMER, SPIEGELBERG H.C.
Increased expression of the IgE Fc receptors on
rat macrophages induced by elevated serum IgE levels.
Immunology 53: 9 - 16 (1984)
- (14) BOZELKA B., McCANTS M.L., SALVAGGIO E., LEHRER S.B.
IgE Isotype suppression in anti- ϵ -treated mice.
Immunology 46: 527 - 532 (1982)
- (15) BRAATHEN L.R., FØRRE Ø., NATVIG J.B., RAJKA G.
Lymphocyte subpopulations, serum immunoglobulins
and complement factors in patients with atopic
dermatitis.
Brit. J. Dermatol. 98: 521 - 528 (1978)
- (16) BRATESCU A., TEODORESCU M.
Circannual variations in the B cell/T cell ratio
in normal human peripheral blood.
J. Allergy Clin. Immunol. 68: 273 - 280 (1981)
- (17) BRÄUTIGAM W., CHRISTIAN P.
Psychosomatische Medizin
G. Thieme Verlag, S. 268 (1981)
- (18) BUCKLEY R.H., FISCUS S.A.
Serum IgE and IgE concentrations in immunodeficiency
diseases.
J. Clin. Invest. 55: 157 - 164 (1975)
- (19) BUCKLEY R.H., SEYMOUR F., SANAL S.O.,
OWNBY D.R., BECKER W.G.
Lymphocyte responses to purified ragweed allergens
in vitro: I. Proliferative responses in normal,
newborn, agammaglobulinaemic and atopic subjects.
J. Allergy Clin. Immunol. 59: 70 - 76 (1977)

- (20) BULLOCK W.E., WATSON S., NELSON K.E., SCHAUF V.,
MAKONKAWKEYOON S., JACOBSON R.R.
Aberrant immunoregulatory control of B lymphocyte
function in lepromatous leprosy.
Clin. Exp. Immunol. 49: 105 - 113 (1982)
- (21) BUSSE W.W., LEE T.-P.
Decreased adrenergic responses in lymphocytes
and granulocytes in atopic eczema.
J. Allergy Clin. Immunol. 58: 586 - 596 (1979)
- (22) BUTLER M., ATHERTON D., LEVINSKY R.J.
Quantitative and functional deficit of suppressor
T cells in children with atopic eczema.
Clin. Exp. Immunol. 50: 92 - 99 (1982)
- (23) BUTTERWORTH A.E., DAVID J.R.
Current concepts: Eosinophil function
N. Engl. J. Med. 304: 154 - 156 (1981)
- (24) BYROM M.A., TIMLIN D.M.
Immune status in atopic eczema: a survey
Brit. J. Dermatol. 100: 491 - 497 (1979)
- (25) CANONICA G.W., MINGARI M.C., MELIOLI G.,
COLOMBATTI M., MORETTA L.
Imbalances of T-cell subpopulations in patients
with atopic diseases and effect of specific immuno-
therapy.
J. Immunol. 123: 2669 - 2672 (1979)
- (26) CAPRON M., CAPRON A., DESSAINT J.P., TORPIER G.,
JOHANSSON S.G.O., PRIN L.
Fc receptors for IgE on human and rat eosinophils.
J. Immunol. 126: 2087 - 2093 (1981)

- (27) CAPRON M., SPIEGELBERG H.L., PRIN L., BENNICH H., BUTTERWORTH A.E., PIERCE R.J., ALIOUAISSI M., CAPRON A.
Role of IgE receptors in effector function of human eosinophils.
J. Immunol. 132: 462 - 468 (1984)
- (28) CAPRON M., KUSNIERZ J. P., PRIN L., SPIEGELBERG H.L., OVLAQUE G., GOSSET P., TONNEL A.-B., CAPRON A.
Cytophilic IgE on human blood and tissue eosinophils: detection by flow microfluorometry.
J. Immunol. 134: 3013 - 3018 (1985)
- (29) CESKA M., LUNDKVIST U.
A new and simple radioimmunoassay method for the determination of IgE.
Immunochemistry 9: 1021 - 1027 (1972)
- (30) CHESS L., MACDERMOTT R.P., SCHLOSSMAN S.F.
Immunologic functions of isolated human lymphocyte subpopulations.
I. Quantitative isolation of human T and B cells and response to mitogens.
J. Immunol. 113: 1113 - 1121 (1974)
- (31) COCA A.F., COOKE R.A.
On the classification of the phenomenon of hypersensitiveness.
J. Immunol. 8: 163 - 182 (1923)
- (32) COCA A.F., WALZER M., THOMMSEN A.A.
Asthma and hay fever in theory and practice.
London, pg. 117 (1931)

- (33) COCA A.F.
Critical review of investigations of allergic diseases.
Erg. Hyg. 14: 538 - 543 (1933)
- (34) COHNEN G., AUGENER W., REUTER A., BRITTINGER G.
Peripheral blood T and B lymphocytes in men in different age groups.
Z. Immun.-Forsch. 149: 463 - 468 (1975)
- (35) CRONER S., KJELLMANN N.I.M., ERIKSSON B., ROTH A.
IgE screening in 1701 newborn infants and the development of atopic disease during infancy.
Arch. Dis. in Childhood 57: 364 - 368 (1982)
- (36) CUNNINGHAM B.A., SELA B.-A., YAHARA I., EDELMAN G.M.
Structure and activities of lymphocyte mitogens.
In: Mitogens in Immunobiology (Oppenheim J.J., Rosenstreich D.L., eds.)
Academic Press, New York - San Francisco - London,
pg. 13 - 30 (1976)
- (37) DANIS V.A., HEATLEY R.V.
Pokeweed mitogen stimulated immunoglobulin production by peripheral blood lymphocytes in vitro: evidence for disordered immunoregulation in patients with ulcerative colitis and Crohn's disease.
Clin. Exp. Immunol. 54: 739 - 746 (1983)
- (38) MCDEVITT H.O., CHINITZ A.
Genetic control of the antibody response:
relationship between immune response and histocompatibility (H-2) type.
Science 163: 1207 - 1213 (1969)

- (39) DWYER J.M.
Identifying and enumerating human T and B lymphocytes.
A review of techniques, problems and progress in
clinical studies.
Prog. Allergy 21: 178 - 200 (1976)
- (40) EGGERS H.S.
De sensibilitate personali.
Med. Inaug. Diss., Halle-Magdeburg, S. 23 (1795)
- (41) ESKOLA J., FREY H., MOLNAR G., SOPPI E.
Biological rhythm of cell-mediated immunity in man.
Clin. Exp. Immunol. 26: 253 - 257 (1976)
- (42) EVANS, R.L., BREAD J.M., LACARUS H., SCHLOSSMANN S.
Detection, isolation and functional characterization
of two human T-cell subclasses bearing unique different-
iation antigens.
J. Exp. Med. 145: 221
- (43) FISER, P.M., BUCKLEY R.H.
Human IgE biosynthesis in vitro: Studies with atopic
and normal blood mononuclear cells and subpopulations.
J. Immunol. 123: 1788 - 1794 (1979)
- (44) FISHBEIN E., ALCOCER-VARELA J., ALARCÓN-SEGOVIA D.
Cellular bases of the production of and response to
interleukin-2 in man: role of autologous rosette-
forming T-cell subsets defined with monoclonal
antibodies.
Immunology 50: 223 - 227 (1983)
- (45) FOX R.I., THOMPSON L.F., HUDDLESTONE J.R.
T_H cells express T-lymphocyte-associated antigens.
J. Immunol. 126: 2062 - 2063 (1981)

- (46) MCGEADY S.J., BUCKLEY R.H.
Depression of cell mediated immunity in atopic eczema.
J. Allergy Clin. Immunol. 56: 393 - 398 (1975)
- (47) GEHA R.S., RAPPAPORT J.M., TWAROG F.J., PARKMAN R.,
ROSEN F.S.
Increased serum immunoglobulin E levels following
allogeneic bone marrow transplantation.
J. Allergy Clin. Immunol. 66: 78 - 81 (1980)
- (48) GERRARD D.M., HEINER D.C., KO C.G., MINK J.,
MEYERS A., DOSMAN J.A.
Immunoglobulin levels in smokers and nonsmokers.
Ann. Allergy 44: 261 - 265 (1980)
- (49) GLEICH G.J., LOEGERING D.A., MANN K.G.,
MALDONADO J.E.
Comparative properties of the Charcot-Leyden crystal
protein and the major basic protein from human
eosinophils.
J. Clin. Invest. 57: 633 - 639 (1976)
- (50) GMELIG-MEYLING F., WALDMANN T.A.
Human B-cell activation in vitro: Augmentation and
suppression by monocytes of the immunoglobulin product-
ion induced by various B-cell stimulants.
J. Immunol. 126: 529 - 537 (1981)
- (51) GONZALEZ-MOLINA A., SPIEGELBERG H.L.
A subpopulation of normal human peripheral B lymphocytes
that bind IgE.
J. Clin. invest. 59: 616 - 623 (1977)

- (52) GREAVES M., JANOSSY G., DOENHOFF M.
Selective triggering of human T and B lymphocytes
in vitro by polyclonal mitogens.
J. Exp. Med. 140: 1 - 18 (1974)
- (53) GRISWOLD D.E., ALESSI S., BADGER A., POSTE G.,
HANNA N.
Inhibition of T suppressor cell expression by
histamine type 2 (H₂) receptor antagonists.
J. Immunol. 132: 3054 - 3057 (1984)
- (54) GROVE D.I., REID J.G., FORBES I.J.
Humoral and cellular immunity in atopic eczema.
Brit. J. Dermatol. 92: 611 (1975)
- (55) GURBINDO C., TRICAS L., LAUZURICA P., UREÑIA V.,
GARCIA R., LAHOZ C.
T cell dependence of human IgE response:
Quantitative and functional studies.
Int. Archs. Allergy appl. Immun. 77: 445 - 450 (1985)
- (56) HARRISON'S
Principles of Internal Medicine
McGraw-Hill book company, 10th edition, pg. 309 (1983)
- (57) HERBERT W.J., WILKINSON P.C.
Wörterbuch der Immunologie
Gustav Fischer Verlag, 1980
- (58) HIRATANI M., MUTO K., OSHIDA Y., HO S., KASEI M.
Lymphocyte responsiveness to Dermatophagoides
farinae extract in mite sensitive patients:
effect of immunotherapy on cellular proliferative
response and specific immunoglobulin E antibody
(RAST score).
J. Allergy Clin. Immunol. 68: 205 - 211 (1981)

- (59) HOFFMANN E.
Zur Benennung der allergischen Erkrankungen als
Allergosen.
Strahlentherapie 35: 1 (1930)
- (60) HOFFMANN M.K.
Antigen-specific induction and regulation of antibody
synthesis in cultures of human peripheral blood
mononuclear cells.
Proc. Natl. Acad. Sci. 77: 1139 - 1143 (1980)
- (61) HOLT P.G., TURNER K.J., HOLT B.J.
In vitro synthesis of IgE by human peripheral blood
leucocytes. II. Modulation of IgE B cell activity
by isotype-specific regulatory T cells.
Clin. Exp. Immunol. 45: 523 - 531 (1981)
- (62) HOLT P.G., TURNER K.J.
Persistent IgE-secreting cells which are refractory
to T-cell control.
Int. Archs. Allergy appl. Immunol. 77: 45 - 46 (1985)
- (63) HOVMARK A.
An in vitro study of IgE production in severe atopic
dermatitis.
Acta Dermatovener. (Stockholm) 59: 223 - 227 (1979)
- (64) ISHIZAKA K., ISHIZAKA T.
Physicochemical properties of human reaginic antibody.
I. Association of reaginic activity with an immuno-
globulin other than A or G globulin.
J. Allergy 37: 169 - 171 (1966)
- (65) ISHIZAKA T.
Complement fixation by aggregated IgE through
alternate pathway.
J. Immunol. 108: 848 - 853 (1972)

- (66) ISHIZAKA K.
Regulation of the IgE response.
In: Fougereau M., Dausset J. (eds.) Immunology 80.
Academic Press, London, pp 815 (1980)
- (67) ISHIZAKA K., HUFF T.F., JARDIEU P., MOORE K.W.,
MARTENS C.L.
IgE-binding factors.
Selective regulation of the IgE response by
T cell factors.
Int. Archs. Allergy appl. Immun. 77: 13 - 20 (1985)
- (68) JACOBS D., LANDON J., HOURI M., MERRITT T.G.
Circulating levels of immunoglobulin E in patients
with cancer.
Lancet 2: 1059 - 1065 (1972)
- (69) JARRETT E.E., HALL E.
The development of IgE-suppressive immunocompetence
in young animals: influence of exposure to antigen
in the presence or absence of maternal immunity.
Immunology 53: 365 - 373 (1984)
- (70) JENSEN J.R., CRAMERS M., THESTRUP-P. K.
Subpopulations of T lymphocytes and non-specific
suppressor cell activity in patients with atopic
dermatitis.
Clin. Exp. Immunol. 45: 118 - 123 (1981)
- (71) JENSEN J.R.
A micromethod for the detection of T_C and T_M cells.
Technical aspects for the enumeration of human
T-cell subpopulations.
Int. Archs. Allergy appl. Immun. 68: 214 - 218 (1982)

- (72) JENSEN J.R., THESTRUP-P. C.
Modulating effects of enzymes on T γ and T μ cells
in patients with atopic dermatitis.
J. invest. Dermatol. 80: 53 - 55 (1983)
- (73) JENSEN J.R.
T γ and T μ lymphocytes.
Danish Med. Bulletin 31: 73 - 89 (1984)
- (74) JOHANSSON S.G.O.
IgE and allergic diseases.
Vortrag während "New trends in allergy II",
München (1985)
- (75) JUHLIN L., JOHANSSON S.G.O., BENNICH H.,
HOGMANN C., THYRESSON N.
Immunoglobulin E in dermatoses.
Arch. Dermatol. 100: 12 - 16 (1969)
- (76) entfällt
- (77) KATONA I.M., URBAN J.F., SCHER I.,
KANELLOPOULOS C., FINKELMAN F.D.
Induction of an IgE response in mice by
Nippostrongylus brasiliensis : characterization of
lymphoid cells with intracytoplasmic or surface IgE.
J. Immunol. 130: 350 - 357 (1983)
- (78) KATZ D.H.
The IgE antibody system is coordinately regulated
by Fc ϵ R Epsilon-positive lymphoid cells and IgE-
selective soluble factors.
Int. Archs. Allergy appl. Immun. 77: 21 - 25 (1985)

- (79) KELLER R.
Immunologie und Immunopathologie
G. Thieme Verlag, Stuttgart, 2. Auflage (1981)
- (80) KIKKAWA Y., KAMIMURA K., HAMAJIMA T.
Thymic alymphoplasia with hyper-IgE-globulinemia.
Pediatrics 51: 690 (1973)
- (81) KISHIMOTO T., WATANABE T., YAMAMURA Y.
IgE class-specific suppressor T cells and
establishment of their hybrid cell line.
Monogr. Allergy 14: 78 - 80 (1979)
- (82) KJELLMANN N.M., JOHANSSON S.G.O., ROTH A.
Serum IgE levels in healthy children quantified
by a sandwich technique (PRIST).
Clinical Allergy 6: 51 - 59 (1976)
- (83) KRAEMER M.J., OCHS H.D., FURUKAWA C.T.,
WEDGEWOOD R.J.
In vitro studies of the hyper-IgE disorders:
Suppression of the spontaneous IgE synthesis by
allogeneic suppressor T lymphocytes.
Clin. Immunol. Immunopathol. 25: 157 - 164 (1982)
- (84) KUNG P., GOLDSTEIN G., REINHERZ E., SCHLOSMAÑ S.
Monoclonal antibodies defining distinctive human
T cell surface antigens.
Science 206: 347 - 352 (1979)
- (85) LEIFERMAN K.
Dermal deposition of eosinophil-granule major
basic protein in atopic dermatitis.
N. Engl. J. Med. 315: 282 - 284 (1985)

- (86) LEUNG D.Y.M., RHODES A.R., GEHA R.S.
Enumeration of T cell subsets in atopic dermatitis
using monoclonal antibodies
J. Allergy Clin. Immunol. 67: 450 - 455 (1981)
- (87) LIBAVIUS A.
De antipathia. In: Singularia, Pars duo.
Frankfurt/M. 1599
- (88) LIM A.M., ROCKLIN R.E.
Histamine modulates in vitro IgG production by
pokeweed mitogen-stimulated human mononuclear cells.
Cell. Immunol. 64: 324 - 329 (1981)
- (89) MARCELLETTI J.F., KATZ D.H.
FcR ζ ⁺ lymphocytes and regulation of the IgE
antibody system.
III. Suppressive factor of allergy (SFA) is produced
during the in vitro FcR expression cascade and
displays corollary physiologic activity in vivo.
J. Immunol. 133: 2837 - 2844 (1984)
- (90) MARCELLETTI J.F., KATZ D.H.
FcR ζ ⁺ lymphocytes and regulation of the IgE antibody
system.
IV. Delineation of target cells and mechanism of
action of SFA and EFA in inhibiting in vitro
induction of FcR expression.
J. Immunol. 133: 2845 - 2851 (1984)
- (91) MARSH D.G., MEYERS D.A., WILMA B.B.
The epidemiology and genetics of atopic allergy.
N. Engl. J. Med. 305: 1551 - 1558 (1981)

- (92) MARTINEZ J.D., SANTOS J., STECHSCHULTE D.J.,
ABDOU N.I.
Non specific suppressor cell function in atopic
subjects.
J. Allergy Clin. Immunol. 64: 485 - 492 (1979)
- (93) MATLOFF S.M., KISELIS I.K., ROCKLIN R.E.
Reduced production of histamine-induced suppressor
factor (HSF) by atopic mononuclear cells and
decreased prostaglandin E₂ output by HSF-stimulated
atopic monocytes.
J. Allergy Clin. Immunol. 72: 359 - 364 (1983)
- (94) MEHRA V., MASON L.H., FIELDS J.P., BLOOM B.R.
Lepromin-induced suppressor cells in patients
with leprosy.
J. Immunol. 123: 1813 - 1819 (1979)
- (95) MITSUYA H., SATO M., HIRANO T., FUJIMOTO K.,
KAWANO F., KISHIMOTO S.
Evidence for a malignant proliferation of IgE-class
specific helper T cells in a patient with Sézary
syndrome exhibiting massiv hyperimmunoglobulinemia E.
Clin. Immunol. Immunopathol. 26: 171 - 183 (1983)
- (96) MORETTA L., FERRARINI A., MINGARI F.C.,
MORETTA A., GROSSI C.E.
Subpopulations of human T cells identified by
receptors for immunoglobulins and mitogen responsiveness.
J. Immunol. 117: 2171 - 2178 (1976)
- (97) MORETTA L., MINGARI M.C. RANIERI C.A.
Loss of Fc Receptors for IgE from human T-lymphocytes
exposed to IgG-immune complexes.
Nature 282: 618 - 623 (1978)

- (98) MORO E.
Über Allergie und Parallergie.
Mschr. Kinderheilkunde 34: 193 - 195 (1926)
- (99) MURRAY P.I., RAHI A.H.S.
Effect of temperature and storage on
lymphocyte subpopulations.
Lancet 2 (8363): 1373 - 1374 (1983)
- (100) NACLERIO R.M., PLAUT M., ADKINSON N.F.,
NORMAN P.S.
Effect of seasonal ragweed exposure on immuno-
globulin E antiragweed antibodies in cultures of
peripheral mononuclear cells, plasma and nasal
secretions.
Int. Archs. Allergy appl. Immun. 78: 225 - 232 (1985)
- (101) NATH I., NARAYANAN R.B., MEHRA N.K., SHARMA A.K.,
GUPTA M.D.
Concanavalin A induced suppressor activity in
human leprosy.
J. Clin. Lab. Immunol. 2: 319 - 327 (1979)
- (102) NOWELL P.C., HUNGERFORD D.A., BROOKS C.D.
In vitro culture of peripheral blood lymphocytes.
Cancer Res. 18: 331 - 337 (1958)
- (103) NUTMAN T.B., VOLKMAN D.J., HUSSAIN R., FANCI A.,
OTTESEN E.
Filarial parasite-specific T cell lines:
Induction of IgE synthesis.
J. Immunol. 134: 1178 - 1184 (1985)

- (104) PATTERSON R., SUSZKO I.M., HSU C.C.S., ROBERTS M.,
SOO H.O.
In vitro production of IgE by lymphocytes from a
patient with hyperimmunoglobulinaemia E, eosino-
philia and increased lymphocytes carrying surface IgF.
Clin. Exp. Immunol. 20: 265 - 272 (1975)
- (105) PEEST D., BRUNKHORST U., SCHEDEL I., DEICHER H.
In vitro immunoglobulin production by peripheral
blood mononuclear cells from multiple myeloma
patients and patients with benign monoclonal
Gammopathy. Regulation by cell subsets.
Scand. J. Immunol. 19: 149 - 157 (1984)
- (106) PETERS M., FAUCI A.S.
Antigen-specific human B-cell responses:
Modulation by immunoregulatory T-cell subsets.
Cell. Immunol. 82: 223 - 231 (1983)
- (107) PIRQUET C.v.
Allergie
Münch. Med. Wschr. 53: 1457 - 1458 (1906)
- (108) PLAUT M., LICHTENSTEIN M., GILLESPIE E., HENNEY C.S.
Studies on the mechanism of lymphocyte mediated
cytolysis. IV. Specifity of the histamine receptor
on effector T-cells.
J. Immunol. 111: 389 - 395 (1973)
- (109) PORTIER P., RICHET CH.
De l'action anaphylactique de certains vénins.
C. R. Soc. Biol. 54: 170 - 178 (1902)
- (109a) PRZYBILLA B., RING J., VÖLK M.
Gesamt IgE-Spiegel im Serum bei dermatologischen
Erkrankungen.
Der Hautarzt 37: 77 - 82 (1986)

- (110) PUCK J.M., RICH R.R.
Regulatory interactions governing the proliferation
of T-cell subsets stimulated with pokeweed mitogen.
J. Immunol. 132: 1106 - 1112 (1984)
- (111) RAFFEL S.
Fifty years of immunology.
Ann. Rev. Microbiol. 36: 1 - 26 (1982)
- (112) RAWLE F.C., MITCHELL E.B., PLATTS-MILLS T.A.
T-cell responses to the major allergen from the
house dust mite Dermatophagoides Pteronyssinus,
antigen P₁: Comparison of patients with asthma,
atopic dermatitis and perennial rhinitis.
J. Immunol. 133: 195 - 201 (1984)
- (113) REA T.H.
Suppressor cell activity and phenotypes in the
blood or tissues of patients with leprosy.
Clin. exp. Immunol. 54: 298 - 304 (1983)
- (114) REINHERZ E.L., SCHLOSSMAN S.F.
Regulation of the immune response - inducer and
suppressor T-lymphocyte subsets in human beings.
N. Engl. J. Med. 303: 370 - 373 (1980)
- (115) RICCI M., DEL PRETE G.F., MAGGI E., LANZAVECCHIA A.,
SALA P.G., ROMAGNANI S.
In vitro synthesis of human IgE:
Reappraisal of a 5-year study.
Int. Archs. Allergy appl. Immun. 77: 32 - 37 (1985)
- (116) RICK W.
Klinische Chemie und Mikroskopie
Springer Verlag Berlin-Heidelberg-New York, 5. Aufl. 1977

- (117) RIEBER P., LOHMEYER J., SCHENDEL D.,
RIETHMUELLER G.
Human T-cell differentiation antigens character-
izing a cytotoxic/suppressor T-cell subset.
Hybridoma 1: 59 - 69 (1981)
- (118) RING J.
Angewandte Allergologie.
MMW-Verlag, München (1982)
- (119) RING J., SENNER H.
In vitro IgE synthesis in patients with atopic eczema.
Monogr. Allergy 18: 242 - 245 (1983)
- (120) RING J.
Atopisches Ekzem. (Allergie, minimale Immundefizienz
oder immun-vegetative Dysregulation?)
Dtsch. Med. Wschr. 13: 483 - 485 (1982)
- (121) RING J.
Was ist Atopie?
in: Fortschritte der praktischen Dermatologie und
Venerologie (Hrsg. O. Braun-Falco, G. Burg)
Springer-Verlag, Berlin (1983)
- (122) ROMAGNANI S., MAGGI E., DEL PRETE F., TRONCONE R.,
RICCI M.
In vitro production of IgE by human peripheral
blood mononuclear cells. I. Rate of IgE biosynthesis.
Clin. exp. Immunol. 42: 167 - 174 (1980)
- (123) ROMAGNANI S., DEL PRETE G.F., MAGGI E., TRONCONE R.,
GIUDIZI G.M., RICCI M.
In vitro production of IgE by human peripheral
blood mononuclear cells. II. Cells involved in the
spontaneous IgE production in atopic patients.
Clin. exp. Immunol. 42: 579 - 588 (1980)

- (124) ROMAGNANI S., MAGGI E., DEL PRETE G.F.,
ALMERIGOGNA F., BIAGOTTI R., GIUDIZI M.G.,
RICCI M.
In vitro production of IgE by human peripheral
blood mononuclear cells. IV. Modulation by allergen
of the spontaneous IgE antibody biosynthesis.
Clin. exp. Immunol. 49: 185 - 192 (1982)
- (125) ROSENKOETTER M., REDER A.T., OGER J.F., ANTEL J.
T-cell regulation of polyclonally induced immuno-
globulin secretion in humans.
J. Immunol. 132: 1779 - 1783 (1984)
- (126) SAMPSON H.A., BUCKLEY R.H.
Human IgE synthesis in vitro: A reassessment
J. Immunol. 127: 829 - 834 (1981)
- (127) SARFATI M., RUBIO-TRUIJILLO M., WONG K., RECTOR E.,
SEHON A.H., DELESPESE G.
In vitro synthesis of IgE by human lymphocytes.
I. The spontaneous secretion of IgE by B-lymphocytes
from allergic individuals: A model to investigate
the regulation of human IgE synthesis.
Immunology 53: 187 - 196 (1984)
- (128) SARYAN J.A., LEUNG D.Y.M., GEHA R.S.
Induction of human IgE synthesis by a factor
derived from T-cells of patients with hyper-IgE states.
J. Immunol. 130: 242 - 247 (1983)
- (129) SAXON A., KAPLAN M., STEVENS R.H.
Isotype-specific human B-lymphocytes that produce
immunoglobulin E in vitro when stimulated by poke-
weed mitogen.
J. Allergy Clin. Immunol. 66: 233 - 241 (1980)

- (130) SCHADEWALDT H.
Geschichte der Allergie
Dustri-Verlag, München (Band I-IV) 1980 - 1983
- (131) SCHELLEKENS P.T.A., EIJSVOGEL V.P.
Lymphocyte transformation in vitro
I. Tissue culture conditions and quantitative measurements.
Clin. Exp. Immunol. 3: 571 - 584 (1968)
- (132) SCHNYDER U.
Neurodermitis-Asthma-Rhinitis. Eine genetisch-allergologische Studie.
Karger-Verlag, Basel (1960)
- (133) SCHOEPP E.
Störung zellvermittelter Immunreaktionen bei Neurodermitis atopica.
Dermatologica 149: 210 - 219 (1974)
- (134) SENNER H.
Experimentelle Untersuchungen über den Einfluß von Allergenen und Mitogenen auf Thymidineinbau und Immunglobulin E-Sekretion von Lymphozytenkulturen bei Patienten mit atopischem Ekzem und gesunden Vergleichspersonen.
Inauguraldissertation an der LMU München, 1984
- (135) SHOU L., SCHWARTZ S.A., GOOD R.A.
Suppressor cell activity after concanavalin A treatment of lymphocytes from normal donors.
J. Exp. Med. 143: 1100 - 1107 (1976)

- (136) SPIEGELBERG H.L., O'CONNOR R.D., SIMON R.A.
MATHISON D.A.
Lymphocytes with immunoglobulin E Fc receptors
in patients with atopic disorders.
J. Clin. Invest. 64: 714 - 720 (1979)
- (137) SPIEGELBERG H.L., SIMON R.A.
Increase of lymphocytes with Fc receptors for
IgE in patients with allergic rhinitis during
the grass pollen season.
J. Clin. Invest. 68: 845 - 851 (1981)
- (138) SPIEGELBERG H.L., PLUMMER J.M., RUEDI J.,
THOMPSON L.F., MELLON M.H., ZEIGER R.S.
Lack of pokeweed mitogen-induced IgE formation
in vitro by human peripheral blood mononuclear
cells: detection of cross-reacting idiotypic
determinants on polyclonal Ig by antibodies to
a single IgE myeloma protein.
J. Immunol. 131: 3001 - 3007 (1983)
- (139) SPIEGELBERG H.L., THOMPSON L.F., MC NEIL D.,
BUCKLEY R.H.
IgE Fc receptor positive B, T and NK cells in
patients with the hyper IgE syndrome.
Int. Archs. Allergy appl. Immun. 77: 277 - 279 (1985)
- (140) STEVENS R.H., MACY E., THIELE C.J.
Evidence that PWM reactive B cells are precommitted
in vivo to the high rate secretion of a single
Ig isotype in vitro.
Scand. J. Immunol. 14: 449 - 453 (1981)

- (141) STINGL G., GAZZE L., CZARNECKI N., WOLFF K.
T-cell abnormalities in atopic dermatitis patients.
J. Invest. Dermatol. 76: 468 - 473 (1981)
- (142) STONER G.L., TOUW J., ATLAU T., BELEHU A.
Antigen-specific suppressor cells in subclinical
leprosy infection.
Lancet II: 1372 - 1378 (1981)
- (143) STORM V., LEEWEN W.
Allergische Krankheiten
Münch. Med. Wschr. 78: 529 - 534 (1931)
- (144) STRANNEGARD I.L., STRANNEGARD O.
Increased sensitivity of lymphocytes from atopic
individuals to histamine-induced suppression.
Scand. J. Immunol. 6: 1225 - 1232 (1977)
- (145) STRANNEGARD O., STRANNEGARD I.L.
T lymphocyte numbers and function in human IgE-
mediated allergy.
Immunological Rev. 41: 149 - 170 (1978)
- (146) SUEMURA M., TADAMITSU K.
Regulation of human IgE response by T cells
and their products.
Int. Archs. Allergy. appl. Immun. 77: 26 - 31 (1985)
- (147) SYLLA A.
Die Allergie als Wort und Begriff.
Allergie und Asthma 4: 358 - 362 (1958)
- (148) SZENTIVANYI A.
The beta adrenergic theory of the atopic abnormality
in asthma.
J. Allergy 42: 203 - 232 (1968)

- (149) TADA T., TANIGUCHI M., OKUMURA K.
Regulation of homocytotropic antibody formation
in the rat. II. Effect of x-radiation.
J. Immunol. 106: 1012 - 1017 (1971)
- (150) TAVADIA H.B., FLEMING K.A., HUME P.O.,
SIMPSON H.W.
Circadian rhythmicity of human plasma cortisol
and PHA-induced lymphocyte transformation.
Clin. Exp. Immunol. 22: 190 - 193 (1975)
- (151) THEML H.
Taschenatlas der Hämatologie
G. Thieme-Verlag, Stuttgart-New York, 1. Aufl. 1983
- (152) THOMAS Y., HUCHET R., GRANJON E.
Histamine-induced suppressor cells of lymphocyte
mitogenic response.
Cell. Immunol. 59: 268 - 277 (1981)
- (153) TIJO A.H., HULL W.M., GLEICH G.J.
Production of human immunoglobulin E antibody in vitro.
J. Immunol. 122: 2131 - 2133 (1979)
- (154) URENA V., GARCIA R., VELA C., ORTIZ F., LAHOZ C.
In vitro production of IgE and IgG by sensitized
human peripheral lymphocytes.
Int. Archs. Allergy appl. Immun. 59: 135 - 142 (1979)
- (155) VAZ N.M., LEVINE B.B.
Immune responses of inbred mice to repeated low
doses of antigen: relationship of histocompatib-
ility (H-2) type.
Science 168: 852 - 859 (1970)

- (156) VELA C. GARCIA R., TRICAS L., PLATAS C.,
LAHOZ C.
Role of T_{γ} cells in the in vitro IgE response
after antigenic stimulation.
Clin. Exp. Immunol 46: 621 - 626 (1981)
- (157) WANG S.R., ZWEIMAN B.
Histamine suppression of human lymphocyte re-
sponses to mitogens.
Cell. Immunol. 36: 28 - 35 (1978)
- (158) WARREN C.P.W., TSE K.S.
Symposium on allergic lung diseases.
III. Serum and sputum Immunoglobulin E levels in
respiratory diseases in adults.
Can. Med. Ass. J. 110: 425 - 434 (1974)
- (159) WASSERMAN S.
Continuing medical education: Mediators of the
immediate hypersensitivity
J. All. clin. Immunol. 72: 101 - 113 (1983)
- (160) WECK d. A.L., STADLER B.M., KNUTTI-MUELLER J.,
RUFF P., HOFSTETTER H., LUEDIN C., HEUSSER C.
Factors influencing human IgE synthesis in vitro
and in vivo.
Int. Archs. Allergy appl. Immun. 77: 38 - 44 (1985)
- (161) WELLER P.
Continuing medical education: Eosinophilia.
J. All. clin. Immunol. 73: 1 - 10 (1984)
- (162) WINQUIST I.
Altered density, metabolism and surface receptors
of eosinophils in eosinophilia.
Immunology 47: 531 - 536 (1982)

- (163) WUETHRICH B.
Neurodermitis atopica sive constitutionalis.
Ein pathogenetisches Modell aus der Sicht des
Allergologen.
Akt. Dermatol. 9: 1 - 7 (1983)
- (164) WYBRAN J.
Human blood T cells: Response to Phytohemagglutinin.
J. Immunol. 110: 1157 - 1160 (1973)
- (165) YAHARA I., EDELMAN G.M.
Restriction of the mobility of lymphocyte immuno-
globulin receptors by concanavalin A.
Proc. Nat. Acad. Sci. 69: 608 - 612 (1972)
- (166) YODOI J., ISHIZAKA K.
Lymphocytes bearing Fc receptors for IgE.
I: Presence of human and rat T-lymphocytes with
FcR epsilon.
J. Immunol. 122: 2577 - 2584 (1979)
- (167) YODOI J., ISHIZAKA K.
Lymphocytes bearing Fc receptors for IgE.
III: Transition of Fc γ R(+) cells to Fc ϵ R(+) cells
by IgE.
J. Immunol. 123: 2004 - 2009 (1979)
- (168) YODOI J., HIRASHIMA M., HIRATA F., DEBLAS H.L.,
ISHIZAKA K.
Lymphocytes bearing Fc receptors for IgE.
VII: Possible participation of phospholipase A₂
in the glycosylation of IgE binding factor.
J. Immunol. 127: 476 - 483 (1981)

- (169) YOKOYAMA K., YANU O., TERAQ T., OSAWA T.
Purification and biological activities of pokeweed (*Phytolacca americana*) mitogens.
Biochem. Biophys. Acta 427: 443 - 452 (1976)
- (170) ZIGHELBOIM J. LICHTENSTEIN A., BENJAMIN D.
Response of normal subjects to mitogens.
I. Influence of adherent cells.
Clin. Immunol. Immunopathol. 19: 406 - 415 (1981)
- (171) ZURAW B.L., NONAKA M., O'HAIR C., KATZ D.H.
Human IgE antibody synthesis in vitro:
Stimulation of IgE responses by pokeweed mitogen
and selective inhibition of such responses by
human suppressive factor of allergy (SFA).
J. Immunol. 127: 1169 - 1177 (1981)

7. ANHANG

7.1. Verwendete Abkürzungen (in alphabetischer Reihenfolge)

AK	Antikörper
B. pertussis	Bordetella pertussis
Ci	Curie
ConA	Concanavalin A
CPM	Counts per minute (Zählwerte pro Minute)
Δ CPM	Veränderung der counts per minute
Δ IgE	Veränderung des Immunglobulin E-Spiegels
D	Dalton
DNP	Dinitrophenol
EFA	Enhancing factor of allergy (die IgE-Antwort verstärkender Faktor)
EEM	Enhancing effector molecule (verstärkungsauslösende Substanz)
EIR	IgE induced regulants (IgE-induzierte Regulatorsubstanzen)

EIR _B	IgE induced regulants of B-cells (IgE-induzierte, von B-Zellen stammende Regulationssubstanzen)
Fab	Antigen-bindendes Fragment eines Immunglobulins
Fc-Rezeptor	Rezeptor für den konstanten Abschnitt (Fragment) eines Immunglobulins
Fc γ , Fc ξ	Konstantes Fragment des IgG, IgE
FCS	Fetal calf serum (fötales Kälberserum)
GEF	Glycosylation enhancing factor (die Glykosylierung verstärkender Faktor)
GIF	Glycosylation inhibiting factor (die Glykosylierung inhibierender Faktor)
H-2-Rezeptor	Histamin Typ 2 Rezeptor
³ H-Thymidin	Tritium-markiertes Thymidin
HETE	Hydroxy-eicosatetraenoic acid. (Hydroxyeikosatetraenolsäure)
HLA-System	Human leucocyte antigen-System (übergeordnetes Histokompatibilitätssystem des Menschen)
HSF	Histamin-induzierter Suppressorfaktor

IgA	Immunglobulin A
IgD	Immunglobulin D
IgE	Immunglobulin E
IgG	Immunglobulin G
IgM	Immunglobulin M
LTB ₄	Leukotrien B ₄
LTT	Lymphozytentransformationstest
Lyt-System	T-Lymphozyten-Alloantigene (bei Mäusen)
Lyt 1 ⁺ Zellen	Antigen Lyt 1 tragende Lymphozyten (Helferzellen)
Lyt 2,3 ⁺ Zellen	Antigen Lyt 2,3 tragende Lymphozyten (cytotoxische/Suppressorlymphozyten)
M ⁺ Kultur	Zellkultur mit Monozyten
M ⁻ Kultur	Zellkultur ohne Monozyten
ml	Milliliter
ns	nicht signifikant
pg	Pikogramm
PGE ₂	Prostaglandin E ₂
PBL-Kultur	Kultur mit Suppressorlymphozyten

PHA	Phytohämagglutinin
PRIST	Papierscheiben-Radio-Immuno-Sorbens-Test
PWM	Pokeweed Mitogen
SEM	Suppressive effector molecule (hemmungsauslösende Substanz)
Ra5	Ragweed antigen No. 5 (Kreuzkrautantigen Nr. 5)
SFA	Suppressive factor of allergy (die IgE-Antwort hemmender Faktor)
T ₃ -Antikörper	Antikörper gegen gemeinsame Oberflächenantigene aller T-Lymphozyten
T ₄ -Antikörper	Antikörper gegen Oberflächenantigene von Helferlymphozyten
T ₈ -Antikörper	Antikörper gegen Oberflächenantigene von zytotoxischen/Suppressor-Lymphozyten
T811-Antikörper	Von uns verwendeter, monoklonaler Antikörper gegen T-Suppressorlymphozyten
T8 ⁻ -Kultur	Zellkultur ohne Suppressorlymphozyten
T _γ -Zellen	Rezeptoren für IgG tragende T-Lymphozyten (= Suppressorlymphozyten)

T_H-Zellen

Rezeptoren für IgM tragende
T-Lymphozyten (= Helferlymphozyten)

UPM

Umdrehungen pro Minute

w/v

weight/volume (Gewicht/Volumen als
Konzentrationsangabe)

7.2. Zusammensetzung verwendeter Kulturmedien

7.2.1. RPMI 1640

(Gibco, Katalog Nr. 320-1875)

	mg/l
Anorganische Salze	
$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$	100
KCl	400
$\text{MgSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$	100
NaCl	6000
NaHCO_3	2000
$\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$	1512
Andere Bestandteile	
Glucose	1,0
Phenolrot	5,0
Aminosäuren	
L-Arginin	200,0
L-Asparagin	50,0
L-Asparaginsäure	20,0
L-Cystin	50,0
L-Glutaminsäure	20,0
L-Glutamin	300,0
Glycin	10,0
L-Histidin	15,0
L-Isoleucin	50,0
L-Leucin	50,0
L-Lysin-HCl	40,0
L-Methionin	15,0
L-Phenylalanin	15,0
L-Prolin	20,0
L-Serin	30,0
L-Threonin	20,0

	mg/l
L-Tryptophan	5,0
L-Tyrosin	20,0
L-Valin	20,0
Vitamine	
Biotin	0,20
D-Ca-Pantothenat	0,25
Cholinchlorid	3,00
Folsäure	1,00
i-Inositol	35,00
Nicotinamid	1,00
Pyridoxin HCl	1,00
Riboflavin	0,20
Thiamin HCl	1,00
Vitamin B ₁₂	0,005

7.2.2. Hanks'sche Lösung

(Apotheke der klinischen Universitäts-
anstalten München)

	mg/l
Anorganische Salze	
CaCl ₂	140,0
KCl	400,0
KH ₂ PO ₄	60,0
MgCl ₂ · 6 H ₂ O	100,0
MgSO ₄ · 7 H ₂ O	100,0
NaCl	8000,0
NaHCO ₃	350,0
Na ₂ HPO ₄ · 7 H ₂ O	90,0
Andere Bestandteile	
Glucose	1000,0
Phenolrot	10,0

Aminosäuren	mg/l
L-Arginin HCl	126,0
L-Cystin	24,0
L-Glutamin	292,0
L-Histidin	42,0
L-Isoleucin	52,0
L-Lysin HCl	72,50
L-Methionin	15,0
L-Phenylalanin	32,0
L-Threonin	48,0
L-Tryptophan	10,0
L-Tyrosin	36,0
L-Valin	46,0
Vitamine	
D-Ca-Pantothenat	1,0
Cholinchlorid	1,0
Folsäure	1,0
i-Inositol	2,0
Nicotinamid	1,0
Pyridoxal HCl	1,0
Riboflavin	0,1
Thiamin HCl	1,0

7.2.3. MEM - nichtessentielle Aminosäuren
(Gibco, Katalog-Nr. 320-1140)

L-Alanin	890,0
L-Asparagin-H ₂ O	1500,0
L-Asparaginsäure	1330,0
L-Glutaminsäure	1470,0
Glycin	750,0
L-Prolin	1150,0
L-Serin	1050,0

7.2.4. MEM-Vitamine

(Gibco, Katalog-Nr. 320-1120)

	mg/l
NaCl	8500,0
D-Ca-Pantothenat	100,0
Cholinchlorid	100,0
Folsäure	100,0
i-Inositol	200,0
Nicotinamid	100,0
Pyridoxal-HCl	100,0
Riboflavin	10,0
Thiamin HCl	100,0

7.2.5. Antibiotisch-antimykotische Lösung

(Gibco, Katalog-Nr. 600-5240)

Penicillin G	10 000 IU/ml
Streptomycin	10 000 µg/ml
Amphotericin B	25 µg/ml

7.3. Datenanhang

Abbildung 15. Inzidenzrate der Symptomben bei PBI- und 18 Kulturen von Normalpersonen. Die Mediane sind eingezeichnet.

● = PBI-Kulturen
○ = 18-Kulturen



7.4. Danksagung

Herrn Prof. Dr. Dr. h.c. O. Braun-Falco danke ich für die Überlassung des Dissertationsthemas und die Arbeitsmöglichkeit in der Dermatologischen Klinik und Poliklinik der Universität München.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. Dr. J. Ring für seine aufmunternde Unterstützung, freundliche Beratung und seine kritischen Anregungen beim Entstehen dieser Arbeit.

Herrn Prof. Dr. Rieber (Institut für Immunologie, Universität München) danke ich herzlich für die großzügige Bereitstellung des T 811-Antikörpers, ebenso Fräulein Rank für die Überlassung von Arbeitsanleitungen.

Wesentlich beigetragen zum erfolgreichen Verlauf meiner Versuche hat Frau Franziska Sedlmeier, die mich geduldig und freundlich in die nötigen Arbeitstechniken eingeführt und oft tatkräftig unterstützt hat. Herzlichen Dank auch an Frau Elke Luxenburger für ihre Hilfe.

Frau Eva Beckord schulde ich besonderen Dank für ihre großzügige Hilfe beim Niederschreiben dieser Arbeit.

7.5. Lebenslauf

Geburtsdatum:	5.3.1956
Geburtsort:	Augsburg-Göggingen
Eltern:	Alfred Thomas, Vater Christine Thomas, Mutter
Schulbildung:	1962 - 1967: Grundschule Göggingen 1967 - 1975: Hum. Gymnasium bei St. Anna, Augsburg 1975: Abitur
Wehrdienst:	1975 - 1976
Studium:	1976 - 1981: Universität Padua 1981 - 1985: Universität München
3. Abschnitt der Ärztlichen Prüfung:	November 1985
Approbation:	November 1985
Amerikanisches Staatsexamen:	Januar 1986
Seit 1.1.1986:	Assistenzarzt in der Abteilung für Radiologie, Stadtkrankenhaus Kempten

